

Desarrollo de un modelo animal para el síndrome de Lesch-Nyhan*

M. Casas

Laboratorio de Neuropsicofarmacología. Fundació d'Investigació de la Santa Creu i Sant Pau.
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Etiopatogenia y sintomatología clínica del síndrome de Lesch-Nyhan

Michel Lesch y William Nyhan describieron por primera vez, en 1964, un trastorno congénito del metabolismo de las purinas, de aparente transmisión genética recesiva ligado al sexo, desencadenado por una disminución en la actividad de la enzima hipoxantina-guanina-fosforibosil-transferasa (HGPRT), que generaba un gran aumento en la síntesis de purinas, con el consiguiente exceso y acumulación de ácido úrico circulante y que se caracterizaba clínicamente por retraso mental, espasticidad, coreoatetosis, conducta automutilante, hiperuricemia, litiasis renal, nefropatía y artritis gotosa¹⁻⁵.

Han sido múltiples los trabajos que han aparecido en la literatura científica describiendo nuevos casos de pacientes, tratando de delimitar cada vez con mayor precisión la sintomatología sistémica y conductual característica de este síndrome y, principalmente, intentando profundizar en los procesos etiopatogénicos que lo desencadenan. La revisión de este conjunto de trabajos nos permite realizar un breve resumen de los conocimientos de que se dispone en la actualidad en relación a este trastorno.

Los casos estudiados de este síndrome son varones, aunque ha sido descrito excepcionalmente en mujeres⁶³. Los pacientes presentan una exploración neurológica normal durante los primeros meses de vida, observándose sólo aisladamente alteraciones en el tono muscular, siendo correcta la evolución psicomotriz. Entre el sexto y octavo mes comienza una regresión psicomotriz global, con pérdida de las adquisiciones y afectación progresiva del tono muscular, tendiendo hacia una franca hipertoniá generalizada, que llega a impedir totalmente el inicio de la deambulaci3n. Aparece al mismo

tiempo irritabilidad continua y movimientos coreoatet3sicos con afectaci3n dist3nica de la musculatura laríngea y faríngea, lo cual genera disartria, disfagia grave e hiperemesis, asociadas a las consiguientes dificultades para la ingesta, agravada por la frecuente propensi3n a la aspiraci3n alimentaria.

Unido a esta amplia semiología neurológica, los pacientes afectos del síndrome de Lesch-Nyhan presentan manifestaciones sistémicas, secundarias al aumento de ácido úrico circulante, totalmente superponibles a las que presentan los enfermos gotosos: hematuria, cristaluria, litiasis renal, anemia, artritis gotosa, etc.

Se considera que todos los pacientes presentan retraso mental, con un coeficiente intelectual (CI) igual o inferior a 50, aunque este dato queda un tanto dudoso en la literatura, ya que contrasta con el aspecto de alerta facial y las reacciones anímicas que en ellos puede observarse. Están descritos, sin embargo, casos aislados con coeficiente intelectual prácticamente normal⁴. Debe tenerse presente al medir el CI en estos pacientes la dificultad que entraña realizar en ellos un estudio psicométrico correcto, dada la distonía generalizada que padecen y la conducta autoagresiva que presentan cuando se les retiran las contenciones físicas que impiden su automutilaci3n.

La manifestaci3n clínica más llamativa de este síndrome es, sin duda, la conducta automutilante impulsiva que presentan los pacientes desde el inicio de la dentici3n. Esta conducta puede conllevar una p3rdida de tejido alrededor de los labios y amputaciones parciales de los dedos realizadas con los dientes, así como autoagresiones efectuadas con diversos objetos a su alcance (cuchillos, objetos de decoraci3n, etc.), todo ello asociado a una gran agresividad verbal. Sorprendentemente, al limitar la posibilidad de autoagresi3n con protecciones con guantes, vendajes, etc. el paciente adopta una conducta relajada y muestra un semblante feliz.

* Trabajo realizado gracias a la Ayuda de Investigaci3n de la Fundaci3n Bartolomé March del año 1986.

La enzima HGPRT convierte las bases purínicas hipoxantina y guanina en sus respectivos nucleótidos, ácidos iosínico y guanílico. En condiciones normales esta enzima está presente en todos los tejidos del organismo, aunque parece encontrarse en mayor cantidad en los ganglios basales. En los pacientes afectos del síndrome de Lesch-Nyhan, la actividad de esta enzima se ha demostrado disminuida en todos los tejidos, llegando a estar ausente en los ganglios basales^{8,9}. Recientemente, Lloyd et al¹⁰ realizaron determinaciones de neurotransmisores en el tejido cerebral de 3 pacientes fallecidos con dicha enfermedad, demostrando en todos ellos: a) actividad HGPRT muy disminuida; b) déficit global del funcionalismo del sistema dopaminérgico, con descenso en los niveles de dopamina, ácido homovanílico, dopadescarboxilasa y tirosina hidroxilasa en las regiones ricas en terminales dopaminérgicas (según estos autores ello indicaría una pérdida funcional del 65 al 90 % de las terminaciones dopaminérgicas mesolímbicas y nigroestriales), y c) niveles normales de dopamina en los cuerpos neuronales.

Mientras que el proceso fisiopatológico responsable de la sobreproducción de purinas y distribución de ácido úrico en los tejidos orgánicos en el síndrome de Lesch-Nyhan es bien conocido actualmente, la etiopatogénesis de los trastornos neurológicos y conductuales no está aclarada, y no puede ser explicada, como se creyó originariamente, por la acción tóxica directa de la hiperuricemia sobre el sistema nervioso central. Por ello, la presencia de estos trastornos supone en la actualidad uno de los interrogantes más importantes planteados en la investigación de este síndrome. Los escasos estudios realizados en autopsias de pacientes fallecidos con este trastorno no han aportado datos significativos más que la ya conocida deficiencia de la enzima HGPRT⁵, a excepción de los trabajos de Lloyd et al¹⁰ y otros, que describen un proceso de degeneración de las vías dopaminérgicas nigroestriales y una disminución de la presencia de aminoácidos esenciales en diversas regiones cerebrales, que podría redundar en una serie de alteraciones de los procesos de neurotransmisión centrales, especialmente ligados al sistema dopaminérgico.

Se han descrito casos de síndrome de Lesch-Nyhan con deficiencia completa de la enzima HGPRT y manifestaciones conductuales autoagresivas atenuadas¹¹, e incluso pacientes con este síndrome sin conducta automutilante^{12,13}, aunque es discutible el hecho de que se les

pueda etiquetar realmente con esta denominación al faltar esta sintomatología tan característica. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que en algunos pacientes la conducta autoagresiva puede aparecer retrasada respecto del resto de manifestaciones somáticas, por lo que la observación de un caso sin automutilaciones no presupone que éstas no puedan aparecer en un estadio más avanzado de la enfermedad^{13,14}.

Parece ser que la conducta autoagresiva podría disminuir en su intensidad con la edad del paciente, si éste logra sobrevivir al conjunto de alteraciones sistémicas. Así, Mizuno describió en 1986 en un amplio grupo de pacientes la progresiva desaparición de esta conducta a partir de los 10 años.

En la actualidad el tratamiento de la abigarrada sintomatología que compone el síndrome de Lesch-Nyhan es, por desgracia, solamente de tipo sintomático. Por un lado se centra en disminuir los niveles plasmáticos de ácido úrico utilizando diversos tratamientos como el alopurinol^{12,15,16}, a pesar de la frecuente aparición de cálculos xantínicos en el riñón^{15,17-19}, la adenina asociada a alopurinol²⁰, la benzbromarona⁵, etc.; por otro, en controlar los devastadores efectos de la conducta autoagresiva a través de tratamientos basados en terapia comportamental²¹⁻²³, manipulación de diversos sistemas de neurotransmisión, entre los que destacan el dopaminérgico y el serotoninérgico²⁴, tratamientos psicofarmacológicos diversos²⁵ y principalmente con la aplicación de medidas protectoras como vendajes, férulas, guantes, etc., tendentes a evitar la automutilación²⁶⁻²⁸. No se descartan medidas quirúrgicas, principalmente estomatológicas, consistentes en extracciones dentarias^{26,29}, tendentes a imposibilitar que los pacientes puedan morderse.

Los resultados son, no obstante, extremadamente pobres, debido a la imposibilidad que tienen todos estos tratamientos de actuar a nivel etiopatogénico^{2,5,14}. Sin embargo, dado que el interés científico y clínico por este trastorno va aumentando en los últimos años, es de esperar que en un futuro próximo vayan siendo introducidos nuevos tratamientos más específicos, basados en los conocimientos fisiopatológicos que progresivamente vienen obteniéndose. Cabe destacar en este sentido los trabajos de Nyhan, primer científico en describir el síndrome, que ha estudiado recientemente la posibilidad de efectuar trasplantes de médula ósea en estos pacientes, con resultados aparentemente esperanzadores^{30,31}.

Al igual que en la mayoría de enfermedades que afectan al ser humano, se ha intentado desarrollar un modelo animal capaz de reproducir en lo posible la sintomatología clínica observada en el hombre, con el fin de disponer de un medio de investigación útil en el ensayo de nuevos enfoques terapéuticos. Han sido varias las modalidades utilizadas en el estudio del síndrome de Lesch-Nyhan, aunque el modelo animal actualmente más utilizado es la conducta automutilante inducida en la rata a través de la administración de altas dosis de cafeína durante un período de tiempo que oscila entre 10 y 15 días³². No está establecido cuál es el mecanismo por el que la cafeína genera esta conducta autoagresiva, habiéndose tratado de explicar, de forma poco satisfactoria, a través de los mecanismos de acción clásicamente aceptados para las metilxantinas, es decir, inhibición de la fosfodiesterasa, traslocación del calcio intra y extracelular y antagonismo adenosínico.

Dentro del proyecto de estudio de una posible actividad dopaminérgica de las metilxantinas que se desarrolla desde 1980 en el Laboratorio de Neuropsicofarmacología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona³³⁻³⁸, se observó repetidamente que los animales que presentaban una hipersensibilización unilateral de los receptores dopaminérgicos estriatales después de la lesión de las vías nigroestriatales con 6-hidroxidopamina, presentaban, tras la administración de cafeína y teofilina, conductas autoagresivas con una mayor frecuencia e intensidad que las observadas en las ratas intactas. Así mismo, las dosis de xantina que se precisaban para la aparición de esta conducta autoagresiva eran mucho menores que las necesarias para desarrollar la misma conducta en el modelo animal del síndrome de Lesch-Nyhan utilizado comúnmente. Estas observaciones condujeron a iniciar un proyecto de investigación tendente a desarrollar un nuevo modelo animal para este síndrome, en el que utilizando metilxantinas, a través de la manipulación de las vías nigroestriatales del sistema de neurotransmisión dopaminérgico, se consiga obtener conductas autoagresivas de mayor intensidad y con una frecuencia de aparición más elevada que permitan mejorar el estudio de los diversos factores que determinan su aparición.

Justificación del objetivo propuesto

El modelo utilizado hasta la actualidad para el estudio de la conducta autoagresiva en el sín-

drome de Lesch-Nyhan se obtiene administrando altísimas dosis de cafeína (200-300 mg/día) por vía oral a ratas de la cepa Sprague-Dawley. Con este modelo se obtienen lesiones leves y moderadas en las patas delanteras y en la cola, entre el sexto y décimo día de la administración de cafeína, en un 10-20 % de animales.

Las elevadas dosis de cafeína, la baja frecuencia de aparición de autolesiones, su poca intensidad, el excesivo tiempo de latencia en su aparición y el absoluto desconocimiento de la causa que genera la conducta autoagresiva en estos animales intoxicados con cafeína hacen que este modelo animal haya seguido usándose, más por la circunstancia de ser el único existente que por su utilidad real.

Es conocido el hecho de que la utilización de la cafeína en este modelo animal surgió del intento de utilizar como substancia inductora de autolesiones algún derivado de las purinas, al ser la acumulación de estas bases el signo mensurable más característico del conjunto de trastornos que componen esta enfermedad. Sin embargo, la acumulación de purinas, si bien justifica la aparición de hiperuricemia, retraso mental, etc., no puede explicar de forma concluyente la aparición de autolesiones. Por ello, la mayoría de autores han estado hipotetizando respecto de la presencia de otros factores que, por sí solos, determinaran la aparición de conductas autoagresivas o activaran determinados mecanismos, hasta el momento desconocidos, que permitieran que una acumulación de bases púricas provocara estas conductas aberrantes.

Las observaciones de Ungerstedt et al³⁹, con hallazgo de autolesiones al administrar altas dosis de agonistas dopaminérgicos a ratas con denervación unilateral de las vías dopaminérgicas nigroestriatales, y por tanto con hipersensibilización de los receptores dopaminérgicos postsinápticos estriatales, de Lloyd et al¹⁰, al encontrar fenómenos completos de denervación bilateral de las vías dopaminérgicas nigroestriatales en pacientes fallecidos por este síndrome, y las del propio autor de este trabajo al constatar un significativo aumento en la frecuencia de aparición de las conductas autoagresivas y en la intensidad de las lesiones que éstas generaban, en ratas con denervación unilateral de la vía dopaminérgica nigroestriatal, al administrarles dosis moderadas de cafeína y teofilina, permitieron diseñar, en 1981, una hipótesis de trabajo que contemplaba la posibilidad de poner a punto un modelo animal del síndrome de Lesch-Nyhan mucho más efectivo, fiable y prác-

tico basado en la manipulación neuroquímica y farmacológica de las vías dopaminérgicas nigroestriatales.

Descripción cronológica del proceso de desarrollo del modelo animal del síndrome de Lesch-Nyhan

El desarrollo del modelo animal para el síndrome de Lesch-Nyhan que se expone en el presente trabajo no surgió de una hipótesis de técnica enunciada y programada de forma completa desde su inicio, sino que ha sido el producto de una continua y dinámica reflexión sobre los resultados obtenidos en las distintas fases de las investigaciones que se iban realizando en el laboratorio de Neuropsicofarmacología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, y las posibles direcciones a seguir en función de la progresiva incorporación al proyecto de los múltiples datos obtenidos en el desarrollo de los distintos experimentos que lo componen. En el curso de este análisis conceptual y metodológico constante es preciso reconocer que, en diversas ocasiones, el avance experimental ha sido facilitado por hallazgos obtenidos a través de un proceso de *serendipity*, lo cual al tiempo que ilustra sobre la complejidad del estudio realizado, realza la bondad de la metodología de investigación empleada.

El progresivo desarrollo conceptual de la hipótesis de trabajo, que ha conducido a las conclusiones que se dimanar de este proyecto, y que pueden concretarse en la propuesta de un modelo animal que es mucho más efectivo, sensible y eficaz para el síndrome de Lesch-Nyhan que el utilizado hasta la actualidad, ha sido elaborado a través de los hallazgos y reflexiones que se describen a continuación, ordenados por orden cronológico:

1979-1980

En los años 1979 y 1980, e. autor de este proyecto observó repetidamente, en la División de Neuropsicofarmacología del Instituto Karolinska de Estocolmo (Suecia), que los animales tratados con aminofilina que se utilizaban en el estudio de una posible actividad dopaminérgica de las metilxantinas presentaban una elevada frecuencia de aparición de conductas automutilantes. Dado que Ungerstedt había descrito en 1971 la aparición de conductas autoagresivas en animales denervados en las vías nigroestriatales con 6-hidroxdopamina (6-OHDA) al admi-

nistrarles altas dosis de agonistas dopaminérgicos, se consideró la posibilidad de que las autolesiones inducidas por la aminofilina fueran una prueba más, susceptible de ser estudiada, de la posible actividad dopaminérgica directa de las metilxantinas que se intentaba estudiar en aquellos momentos.

1980-1981

Se crea, en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, el Laboratorio de Neuropsicofarmacología Experimental y Clínica. Este laboratorio tiene como plan de trabajo inicial el estudio de los mecanismos básicos de la conducta rotadora inducida por agonistas dopaminérgicos en ratas con hipersensibilidad de los receptores dopaminérgicos estriatales y la delimitación de una posible actividad dopaminérgica directa de las metilxantinas.

En 1981, siguiendo el proyecto destinado a comprobar la posible actividad dopaminérgica de las xantinas, se iniciaron los estudios dosis/respuesta con cafeína, teofilina y teobromina utilizando el modelo animal de la rata rotadora, con el fin de delimitar las características de la respuesta rotatoria de los animales con receptores dopaminérgicos estriatales hipersensibilizados en función de la dosis de metilxantina administrada. Se observó que con cafeína y teofilina y a dosis de 30, 60, 90 y 120 mg/kg, aparecían entre un 20 % y un 30 % de animales con signos de autolesiones. No parecía existir una correlación entre la dosis de xantina administrada y el número de ratas lesionadas o la intensidad de la lesión, aunque sí existía entre la intensidad de la rotación y la aparición de lesiones. No se observaron conductas autoagresivas con la administración de teobromina a las dosis utilizadas (de 5 a 150 mg/kg), lo cual parecía confirmar, al ser muy pobre el paso de esta metilxantina a través de la barrera hematoencefálica, que la inducción de autolesiones por estas sustancias vendría mediatizada por un efecto sobre el sistema nervioso central.

En 1981 se publicó el trabajo de Lloyd et al¹⁰, en el que se relacionaban por primera vez los fenómenos de denervación de las vías dopaminérgicas nigroestriatales y el síndrome de Lesch-Nyhan, en pacientes afectados de este trastorno. Los datos de Lloyd et al sugerían que la relación entre automutilación y xantinas podía estar mediatizada por el sistema dopaminérgico.

Decidimos ese año iniciar una serie de estudios reglados de la relación existente entre administración de cafeína y teofilina, denervación

de las vías dopaminérgicas nigroestriatales y conductas automutilantes en ratas de la cepa Sprague-Dawley.

1981-1982

En una primera fase, y una vez reproducido el modelo animal clásico del síndrome de Lesch-Nyhan, se intentó estudiar el efecto de la cafeína en animales con las vías dopaminérgicas nigroestriatales bilateralmente denervadas con 6-OHDA, a fin de desarrollar fenómenos bilaterales de hipersensibilización de los receptores dopaminérgicos estriatales, tal como aparentemente se encontraban en los pacientes descritos por Lloyd et al. La exigencia de denervación completa evaluada a través del cuadro de afagia, adipsia y acinesia que se generaba en los animales bilateralmente denervados, hacía imposible, con la metodología disponible, poder recuperar a los animales e incluso mantenerlos vivos el período de 4-6 semanas que se consideraba adecuado para permitir el desarrollo de fenómenos completos de hipersensibilización en los receptores dopaminérgicos estriatales. A pesar de que se observaron intensos fenómenos de automutilación en estos animales con dosis de cafeína de 5 y 15 mg/kg en la primera semana después de la denervación, la imposibilidad de efectuar una correcta evaluación conductual del grado de denervación, las presumibles diferencias interindividuales en el desarrollo del proceso de hipersensibilización de los receptores estriatales, el elevado número de muertes y la imposibilidad de lograr posteriormente la supervivencia del animal, aconsejaron abandonar este método de denervación bilateral, puesto que a pesar de tener un gran interés desde el punto de vista bioquímico, no lo tenía desde el punto de vista conductual.

Debe destacarse, sin embargo, el importante aporte teórico que estos estudios facilitarán al proyecto basado en la búsqueda de una actividad agonista dopaminérgica para las metilxantinas, dado que estas sustancias revertían completamente el modelo de adipsia, afagia y acinesia de forma parecida a como lo harían los agonistas dopaminérgicos directos, tales como la apomorfina o la bromocriptina.

1982-1983

Después de este primer estudio con ratas bilateralmente denervadas, todos los experimentos posteriores fueron realizados con animales unilateralmente denervados.

El primer estudio reglado con ratas unilateralmente denervadas, cumpliendo los requisitos de rotación en dos picos, indicador de denervación correcta³⁹, tuvo por objeto delimitar la incidencia de automutilaciones que presentaban estos animales en función de las dosis de cafeína y teofilina administradas (30, 60, 90 y 120 mg/kg por vía subcutánea durante 10 días), comparándolo con grupos control de animales no denervados. Los resultados mostraron que en las ratas no denervadas no aparecía ningún tipo de conducta automutilante, mientras que en los animales denervados, la incidencia de automutilaciones estaba situada entre el 20 % y el 30 %, sin que existiera, sin embargo, una correlación directa entre la dosis de metilxantina administrada y la incidencia o intensidad de las conductas autoagresivas.

1983-1984

Dado que los estudios realizados con el modelo animal de la rata rotadora indicaban que no todos los animales correctamente denervados y con rotaciones en dos picos presentaban una adecuada rotación con cafeína y teofilina, se decidió repetir los experimentos anteriores con ratas denervadas que presentaran rotación en dos picos con 0,05 mg/kg de apomorfina por vía subcutánea s.c. y rotaciones de más de 1.500 vueltas completas con 30 mg/kg de cafeína por vía subcutánea. Utilizando esta nueva metodología, la incidencia de automutilaciones aumentó al 40-50 % de los animales al administrar 60 y 90 mg/kg de cafeína. Aumentó, así mismo, el número de animales muertos con la dosis de 90 y 120 mg/kg, hasta el punto de que se desecharon totalmente estas dosis en la programación de los posteriores experimentos.

Hasta este momento los estudios sobre autolesiones se habían realizado controlando al mismo tiempo el tipo de patrón rotacional de los animales utilizados. Ello implicaba que los animales permanecían un mínimo de 12 horas en los rotómetros durante el período oscuridad, es decir, el período de máxima actividad. En 1981, al independizar el presente proyecto de búsqueda de un nuevo modelo animal para el síndrome de Lesch-Nyhan del estudio de una posible actividad dopaminérgica de las xantinas, los estudios centrados en la inducción de autolesiones empezaron a efectuarse en jaulas individuales. Sorprendentemente, a partir de este momento no se consiguió reproducir los resultados obtenidos anteriormente, siendo la fre-

cuencia e intensidad de las autolesiones muy variable y en todo caso siempre inferior al 40 % de los animales estudiados.

Indudablemente existía un factor diferencial entre la capacidad de inducción de autolesiones en las ratas situadas en los rotómetros, respecto de las situadas en cajas individuales. Se inició por ello un estudio sistemático para conseguir averiguar cuáles eran los factores diferenciales. Fueron valoradas y estudiadas las siguientes variables en animales unilateralmente denervados con 6-OHDA y que presentaban rotación en dos picos con apomorfina y rotación de más de 1.500 vueltas con 30 mg/kg de cafeína, administrando 60 mg/kg por vía subcutánea durante un período de 10 días:

1. Estancia en jaulas individuales durante todo el experimento *versus* estancia de 12 horas aisladas en los rotómetros y 12 en jaulas comunes. Los resultados fueron negativos, sin que hubiera correlación.
2. Realización de las inyecciones en el período de máxima actividad, es decir, en el período de 12 horas de oscuridad. Los resultados fueron negativos, es decir, no existía correlación.
3. Sujeción de un arnés apretado alrededor del cuerpo, en ratas inyectadas en sus jaulas, al igual que se efectuaba en los rotómetros. Los resultados fueron negativos, no existía correlación.
4. Abandono de los animales sin agua ni comida durante las 12 horas siguientes a la inyección de cafeína (inyección al inicio del período de luz). Los resultados seguían siendo muy variables, aunque aumentaron en la frecuencia de presentación. Por lo tanto, la falta de agua y comida, de forma similar a la deprivación a que estaban sometidas las ratas en los rotómetros, parecía aumentar la frecuencia de aparición de las autolesiones.
5. Para intentar diferenciar entre deprivación de bebida y deprivación de comida se controlaron las siguientes variables: a) animales con 24 horas de deprivación de bebida con posibilidad de comer *ad libitum*; b) ratas con 24 horas de deprivación de comida con posibilidad de beber *ad libitum*, y c) animales con 24 horas de deprivación completa de bebida y comida.

Los resultados mostraron que era la falta de ingesta de sólidos la que potenciaba la automutilación. Estos resultados podrían asimilarse al problema nutricional que presentan la mayoría de los pacientes que padecen este síndrome.

1984-1985

Con el fin de estandarizar y a ser posible acrecentar el efecto potenciador de los fenómenos de automutilación que tiene la deprivación de comida, se ensayó el proceso de adelgazar de forma progresiva a los animales hasta conseguir estabilizarlos en un 80 % de su peso corporal normal. Se pretendía con ello estandarizar el grado de deprivación que debían presentar los animales a fin de conseguir un modelo reproducible y consistente. Los resultados fueron concluyentes, dado que el número de animales que presentaban fenómenos de automutilación aumentó hasta un 70 %, aumentando así mismo la intensidad de las autolesiones.

En el transcurso del proceso descrito anteriormente y en el proyecto paralelo que sobre el estudio de una posible actividad dopaminérgica de las metilxantinas se venía desarrollando en nuestro laboratorio, se habían observado unos intensos fenómenos de tolerancia en la conducta rotatoria inducida por estas sustancias cuando eran administradas en intervalos de 24 horas. Posteriormente, nuestro grupo de trabajo consiguió inhibir este proceso de tolerancia administrando un pretratamiento con el anticolinérgico de acción central escopolamina, siendo inefectiva la metilescopolamina, anticolinérgico que no pasa la barrera hematoencefálica.

Con el fin de averiguar si estos fenómenos de tolerancia observados en la actividad dopaminérgica de las metilxantinas podían interferir en la aparición de las conductas autoagresivas de los animales que estudiábamos, se administraron diferentes dosis de escopolamina y metilescopolamina asociadas a la cafeína y teofilina.

Los resultados fueron altamente satisfactorios, obteniéndose autolesiones en el 100 % de animales con la administración de 60 mg/kg de cafeína y 20 mg/kg de escopolamina. La dosis de 90 mg/kg de cafeína fue desechada porque aunque se obtenían el 100 % de animales automutilados, mataba a un 70-90 % de ellos en los tres primeros días de estudio.

Con el fin de evitar en lo posible los efectos periféricos de la escopolamina se añadió el anticolinérgico de acción periférica neostigmina a la dosis de 0,4 mg/kg. Con ello mejoró enormemente la sintomatología periférica de bloqueo atropínico.

1985-1986

Tomando como modelo ideal la administración a ratas deprivadas hasta un adelgazamiento

to del 20 % de su peso corporal, de escopolamina, 20 mg/kg, más neostigmina, 0,4 mg/kg, más cafeína 60, mg/kg, o bien teofilina, 60 mg/kg, el siguiente paso fue intentar bloquear la conducta automutilante con haloperidol. Los resultados fueron altamente sorprendentes, al obtener con dosis de haloperidol de 0,5, 1,5 y 3 mg/kg un aumento en la intensidad de las autolesiones, siendo este fenómeno más evidente con las dosis de 1,5 mg/kg. Para lograr la supresión de la conducta autoagresiva, el animal debe quedar cataleptizado, cosa que sucede con la dosis de 5 mg/kg. Esta dosis, extraordinariamente alta comparada con la dosis que se precisa para inducir catalepsia en una rata intacta (0,5 mg/día), puede ser explicada a través del efecto dopaminérgico de las xantinas.

Dado que el haloperidol es un neuroléptico con efecto bloqueador predominante sobre los receptores D_2 , aunque también provisto de efecto bloqueador D_1 , se repitió el resultado con dos neurolépticos bloqueadores específicos de los receptores D_1 y D_2 . Se escogió el neuroléptico SCH-23390 para los receptores D_1 (0,1, 0,25, 0,5 y 1 mg/kg por vía subcutánea) y el sulpiride para los receptores D_2 (0,25, 0,5, 1 y 5 mg/kg por vía subcutánea). Los resultados fueron concluyentes: el neuroléptico SCH-23390 bloqueaba perfectamente las autolesiones a la dosis de 0,5 mg/kg; por el contrario, el sulpiride potenciaba estas autolesiones a la dosis de 1 mg/kg.

Conclusión

Los estudios antes expuestos permiten proponer un nuevo modelo animal para el síndrome de Lesch-Nyhan que consiste en la administración de cafeína o teofilina a dosis de 60 mg/kg por vía subcutánea a ratas Sprague-Dawley con denervación unilateral de las vías dopaminérgicas nigroestriales con 6-OHDA, disminución de un 20 % de su peso corporal, inhibición de las vías colinérgicas centrales con escopolamina 20 mg/kg y bloqueo selectivo de los receptores dopaminérgicos D_2 con sulpiride 5 mg/kg.

Con la estandarización conductual del modelo, se ha considerado terminada esta primera fase de estudio experimental, que deberá ser seguida por otra que reproduzca los hallazgos obtenidos, estudiando los cambios moleculares que existen en el cuerpo estudiado. Ello se realizará a través de la implantación de cánulas en cuerpo estriado y el posterior análisis *in vivo* de los neurotransmisores y sustancias activas implicados en el proceso de autolesiones. De una

progresiva delimitación de los factores que intervienen en el desarrollo de las autolesiones en el modelo animal descrito en este trabajo se podrán, con toda seguridad, inferir nuevas aproximaciones terapéuticas que contribuyan a un tratamiento más efectivo de la conducta automutilante de los pacientes afectados del síndrome de Lesch-Nyhan.

BIBLIOGRAFÍA

1. LESCH M, NYHAN WL. A familial disorder of uric acid metabolism and central nervous system function. *Am J Med*, 1964; 61-70.
2. NYHAN WL. The Lesch-Nyhan syndrome. *Ann Rev Med* 1973; 41-60.
3. SCUYLEY C. Orofacial manifestations of the Lesch-Nyhan syndrome. *Int J Oral Surg* 1981; 10: 380-383.
4. CHRISTIE R, BAY C, KAUFMAN IA, BAKAY B, BORDEN M, NYHAN WL. Lesch-Nyhan disease: clinical experience with nineteen patients. *Dev Med Child Neurol* 1982; 24: 293-306.
5. MIZUNO T, ENDOH H, KONHISHI Y, MIYACHI Y, AKOAKA I. An autopsy case of the Lesch-Nyhan syndrome: normal HGPRT activity in liver and xanthine calculi in various tissues. *Neuropaediatric* 1986; 3: 351-355.
6. HARA K, KASHIWAMATA S, OGASAWARA N et al. A female case of the Leach, Nyhan syndrome. *Tohoku J Exp Med* 1982; 137: 275-282.
7. OGASAWARA N, KAASHIWAMATA S, OISHI H et al. Hypoxanthine, guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT) deficiency in a girl. *Adv Exp Med Biol* 1984; 165: 13-18.
8. KOPIN IJ. Neurotransmitters and the Lesch-Nyhan syndrome. *N Engl J Med* 1981; 5: 1.148-1.149.
9. BAUMEISTER AA, FRYE GD. The biochemical basis of the behavioral disorder in the Lesch-Nyhan syndrome. *Neurosci Biobehav Rev* 1985; 9: 169-178.
10. LLOYD KG, HORNYKIEWICZ O, DAVIDSON L et al. Biochemical evidence of dysfunction of brain neurotransmitters in the Lesch-Nyhan syndrome. *N Engl J Med* 1981; 11: 6-1.111.
11. FATTAL A, SPIRER Z, ZOREF SHANI E, SPERLING O. Lesch-Nyhan syndrome: biochemical characterization of case with attenuated behavioral manifestation. *Enzyme* 1984; 31: 55-60.
12. BAKAY B, NISSINEN E, SWEETMAN L, FRANCKE U, NYHAN WL. Utilization of purines by an HPRT variant in an intelligent, nonmutative patient with features of the Lech-Nyhan syndrome. *Pediatr Res* 1979; 13: 1.365-1.370.
13. MITCHELL G, McLONNES RR. Differential diagnosis of cerebral palsy: Lesch-Nyhan syndrome without self-mutilation. *Can Med Assoc* 1984; 130: 1.323-1.324.
14. SINGH S, WILLERS I, ULLRICH K, GUSTMANN H, NIEDERWIESER A, GOEDDE HW. A case of Lesch-Nyhan

- syndrome with delayed onset of self-mutilation search for abnormal biochemical, immunological and cell growth characteristic in fibroblasts and neurotransmitters in urine. *Adv Exp Med Biol* 1986; 195: 205-210.
15. OGAWA A, WATANABE K, MINEJIMA N. Renal xanthine stone in Lesch-Nyhan syndrome treated with allopurinol. *Urology* 1985; 26: 56-58.
 16. EDWARDS NL, PUIG JG, MATEOS FA. The effect of allopurinol on cerebral spinal fluid (CSF) purines in hypoxanthine-guanine-phosphoribosyl-transferase (HGPRT) deficiency syndromes. *Adv Esp Med Biol* 1986; 195: 465-469.
 17. MORTON WJ. Lesch-Nyhan syndrome. *Urology* 1982; 20: 506-509.
 18. LORIS PABLO C, OLIVAN DEL CACHO MJ, HERAS GIRONELLA M et al. A: Xanthine lithiasis in a case of Lesch-Nyhan syndrome treated with allopurinol. *An Esp Pediatr* 1983; 19: 401-404.
 19. OKA T, UTSUNOMIYA M, INCHIKAWA Y et al. Xanthine calculi in the patient with the Lesch-Nyhan syndrome associated with urinary tract infection. *Urol Int* 1985; 40: 138-140.
 20. BUHRDEL P, KRUGER W, HIRSCHBERG K, WEHNERT M. Adenine therapy in Lesch-Nyhan syndrome. *Acta Pediatr Hung* 1985; 26: 327-333.
 21. JONES FH. An extinction procedure for eliminating self-destructive behavior in a 9-year-old autistic girl. *J Autism Child Schizo* 1974; 4: 241-250.
 22. GILBERT S, SPELLACY E, WATTS RW. Problems in the behavioural treatment of self-injury in the Lesch-Nyhan syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1979; 21: 795-800.
 23. LA VECCHIO F. Behavioural treatment of Lesch, Nyhan Syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1980; 22: 405-407.
 24. NYHAN WL, JOHNSON HG, KAUFMAN IA, JONES KL. Serotonergic approaches to the modification of behavior in the Lesch-Nyhan Syndrome. *Appl Res Ment Retard* 1980; 1: 25-40.
 25. DASHEIFF RM. Benzodiazepine treatment for Lesch-Nyhan syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1980; 22: 101-102.
 26. FERRANDEZ A, MAYAYO E, NYHAN L, BAKAY B. Report of a patient with Lesch-Nyhan Syndrome by total deficiency of HGPRT and with normal activity in female family members. *An Esp Pediatr* 1982; 17: 60-64.
 27. WURTELE SK, KING AC, DRABMAN RS. Treatment package to reduce SIB in a Lesch-Nyhan patient. *J Ment Defic Res* 1984; 28: 227-234.
 28. SHAPIRA J, ZILBERMAN Y, BECKER A. Lesch-Nyhan syndrome: a nonextracting approach to prevent mutilation. *Spec Care Dentist* 1985; 5: 210-212.
 29. LABANC J, EPKERE BNJ. Lesch-Nyhan syndrome: surgical treatment in a case with lip chewing. A case report. *J Maxillofac Surg* 1981; 9: 64-67.
 30. NYHAN WL, PAGE T, GRUBER HE, PARKMAN R. Bone marrow transplantation in Lesch-Nyhan disease. *Birth Defects* 1986; 22: 113-117.
 31. NYHAN WL, PARKMAN R, PAGE T et al. Bone marrow transplantation Lesch-Nyhan disease. *Adv Exp Med Biol* 1986; 195: 167-170.
 32. FERRER I, COSTELL M, GRISOLIA S. Lesch-Nyhan syndrome-like behavior in rats from caffeine ingestion. *FEBS Lett* 1982; 141: 275-278.
 33. CASAS M, PRIETO R, BERNAT M et al. Rotational behaviour induced by theophylline in 6-OHDA nigrostriatal denervated rats is dependent of the supersensitivity of the denervated dopaminergic receptors, but is not correlated with the apomorphine-induced contralateral rotation. *Neurosci Lett* 1983; supl: 14-S56.
 34. CASAS M, ÁLVAREZ E, UDINA C et al. The supersensitivity of the striatal dopamine receptors enhance the self-mutilative behaviour induced by methylxanthines. 14th Collegium Internationale Neuro Psychopharmacologium Congress. Florencia, 19-23 de junio de 1984.
 35. CASAS M, ÁLVAREZ E, GARCIA C, JANE F, HERRERA-MARSCHITZ M, UNGERSTEDT U. Ergot alkaloids and methylxanthines but not apomorphine, restore the drinking behaviour in bilateral 6-OHDA nigrostriatal denervated rats. 14th Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologium Congress. Florencia, 19-23 de junio de 1984.
 36. CASAS M, ÁLVAREZ E, UDINA C, GRAU JM, JANE F, HERRERA-MAHY N. Methylxanthines potentiate the dopaminergic activity of low doses of bromocriptine in the «Turning behaviour» animal model. *Cajal Conference in Neurobiology*. Madrid, 17-20 de noviembre de 1984.
 37. CASAS M, ÁLVAREZ E, TALARN A, UDINA C, HERRERA-MARSCHITZ M, UNGERSTEDT U. Scopolamine may prevent but not reverse the tachyphylactic phenomena induced by daily caffeine administration in the «turning behaviour» animal model. *Neurosci Lett* 1984; supl.: 18-S222.
 38. CASAS M, SALVA P, ÁLVAREZ E et al. Enhancement of aminophylline toxicity in female 6-OHDA nigrostriatal denervated rats. IUPHAR. 9th International Congress of Pharmacology. Londres, 29 julio -3 agosto de 1984.
 39. UNGERSTEDT U, HERRERA-MARSCHITZ M. Behavioural pharmacology of dopamine receptor mechanisms. En: Stjärne L, Hedwist P, Lagerkrantz H, Wenmalm A, eds *Chemical neurotransmission: 75 years*. Nueva York, Academic Press, 1981; 481-494.

DISCUSIÓN

J.E. FELIU: ¿Tiene usted alguna evidencia de que todos estos tratamientos a los que se someten los animales tengan algún efecto sobre los niveles de la enzima hipoxantina-guanina-

fosforribosil-transferasa?

M. CASAS: No disponemos de los medios necesarios, pero en Valencia está el grupo del Prof. Santiago Grisolia, que trabaja intensamente

sobre cafeína y niveles de metilxantinas a nivel central y sus efectos sobre esta enzima.

J.E. FELIU: Es decir, que todo este tratamiento no afecta en ningún momento a la expresión o a la actividad de la enzima que en principio es causa de la enfermedad.

M. CASAS: En principio no. Además, otros autores están consiguiendo esas autolesiones administrando dosis altas de apomorfina.

J.E. FELIU: ¿Y cuál es su interpretación de la necesidad del ayuno? ¿Cree usted que ésto podría explicarse por la situación hormonal que acompaña al ayuno, o quizá por el estrés añadido?

M. CASAS: Pienso que puede tratarse de algún problema metabólico relacionado con el ayuno. En cualquier caso, los pacientes con síndrome de Lesch-Nyhan siempre presentan desnutrición.

Otro aspecto a destacar es el condicionamiento de los estímulos ambientales mediados por la activación del sistema dopaminérgico. Por poner un ejemplo, tuvimos unas ratas a las que hablamos inducido autolesiones, almacenadas durante 6 meses pendientes de envío y como no las enviamos las volvimos a colocar casualmente en el mismo lugar

en que se habían automutilado. Con gran sorpresa constatamos que volvieron a automutilarse, aunque con menor intensidad. Es decir, sin fármaco, por estimulación del sistema dopaminérgico y por haber aprendido una serie de conductas, las ratas eran capaces de repetir la conducta automutilante en respuesta al medio ambiente. Eso complica mucho más las cosas, porque los niños con síndrome de Lesch-Nyhan tienen un problema enzimático, naturalmente, pero al mismo tiempo presentan una desaferentización de las vías dopaminérgicas estriatales, y se autolesionan en el mismo ambiente, es decir, que los fenómenos de automutilación en estos pacientes son realmente más complejos de lo que en un principio podría parecer.

S. ERILL: Quería preguntar al Dr. Casas en relación con los animales en los que se consigue un 75 % de autolesiones en este modelo, en los que no se ha empleado escopolamina sino exclusivamente denervación, ¿qué piensa que podría suceder si se administrara fisostigmina, es decir, un fármaco con efectos colinérgicos?

M. CASAS: Pues no lo sé, pero esta interesante cuestión está incluida en la memoria de investigación de los próximos años.