

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL UNIVERSITARIO "DOCE DE OCTUBRE"

DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLOGICA

SECCION DE NEUROLOGIA

Efectos del ácido valproico sobre el
metabolismo de la carnitina: Estudio
bioquímico y morfológico en la rata

Tesis Doctoral
Santiago Madero García

Director:
Prof. J. R. Ricoy Campo

Madrid, Septiembre 1992

D. JULIAN SANZ ESPONERA, CATEDRATICO DE ANATOMIA
PATOLOGICA Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE ANATOMIA
PATOLOGICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE DE MADRID,

INFORMA Que el trabajo "EFECTOS DEL ACIDO VALPROICO
SOBRE EL METABOLISMO DE LA CARNITINA. ESTUDIO BIOQUIMICO
Y MORFOLOGICO EN LA RATA" ha sido realizado por D.
Santiago Madero Garcia bajo la dirección del Prof. D.
José Ramón Ricoy Campo.

Se trata de un trabajo cuyo planteamiento, desarrollo y
exposición de resultados y conclusiones tienen
características adecuadas, por lo que me es grato emitir
este informe favorable como Director del Departamento
para que sea defendido para optar al grado de Doctor.

Lo que firmo en Madrid a 24 de Septiembre de 1992

Julián L

Prof. Julián Sanz Esponera

D. JOSÉ RAMON RICOY CAMPO, PROFESOR TIULAR DE ANATOMIA
PATOLOGICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE DE MADRID

CERTIFICA Que D. Santiago Madero García ha realizado en
este Departamento, y bajo mi dirección, el trabajo
titulado "Efectos del ácido valproico sobre el
metabolismo de la carnitina. Estudio bioquímico y
morfológico en la rata", y que dicho trabajo reúne las
condiciones necesarias para ser leído como Tesis Doctoral
con objeto de optar al grado de Doctor.

A petición del interesado, y para que conste donde
proceda, firmo el presente certificado en Madrid a diez
y seis de Septiembre de 1992.



Prof. José Ramón Ricoy Campo

INDICE

	Página
Agradecimientos	1
Abreviaturas	3
Indice de figuras	5
INTRODUCCION	6
I. Carnitina	8
II. Acido valproico	10
HIPOTESIS Y OBJETIVOS	20
MATERIAL Y METODOS	
I. Material	22
II. Métodos	23
II.A. Desarrollo de la fase experimental	23
II.B. Metodología del estudio bioquímico	25
II.C. Metodología del estudio anatomopatológico	26
II.C.1. Microscopía óptica	26
II.C.2. Microscopía electrónica ...	29
II.C.3. Morfometría	30
II.D. Metodología del estudio estadístico	32
II.E. Metodología del estudio bibliográfico y características de edición	35

RESULTADOS

I. Desarrollo de la fase experimental	37
II. Peso corporal	37
III. Resultados del estudio bioquímico	38
III.A. Plasma	39
III.B. Hígado	46
III.C. Músculo sóleo	54
IV. Resultados del estudio óptico	60
IV.A. Músculo esquelético	60
IV.B. Hígado	66
IV.C. Corazón	67
V. Resultados del estudio ultraestructural .	67
V.A. Area mitocondrial	67
V.B. Grosor de la banda Z	70

DISCUSION

I. Desarrollo de la fase experimental	72
II. Peso corporal	73
III. Estudio bioquímico	75
IV. Estudio con microscopía óptica	82
V. Estudio con microscopía electrónica	87

CONCLUSIONES	90
--------------------	----

FIGURAS	92
---------------	----

RESUMEN	101
---------------	-----

ANEXO 1

I. Características del músculo esquelético en relación con el metabolismo lipídico	105
II. Carnitina	110
II.A. Características generales	110
II.B. Metabolismo	111
II.C. Mecanismo de acción	119
II.D. Síndromes por deficiencia de carnitina	127
II.E. Utilización clínica y experimental	136
III. Acido valproico	153
III.A. Características generales	153
III.B. Mecanismo de acción	154
III.C. Farmacocinética	158
III.D. Utilización clínica y experimental	169
III.E. Toxicidad y efectos secundarios ..	175

ANEXO 2

I. Técnicas bioquímicas	183
II. Técnicas histoquímicas	186

ANEXO 3

I. Datos del peso corporal	190
II. Datos bioquímicos	191
III. Datos de morfometría óptica	192
IV. Datos de morfometría ultraestructural.	193

BIBLIOGRAFIA	196
--------------------	-----

AGRADECIMIENTOS

En la realización de este trabajo ha participado, de uno u otro modo, un buen número de personas cuya contribución ha sido importante para la finalización del mismo.

El Prof. Dr. D. José Ramón Ricoy Campo, director de esta Tesis, diseñó el estudio y me animó constantemente a llevarlo a cabo durante su larga fase de realización.

El Prof. Dr. D. Julián Sanz Esponera informó favorablemente para que fuera leído como Tesis Doctoral.

El Prof. Dr. D. Pedro García Barreno facilitó la utilización del animalario donde se llevó a cabo la fase experimental.

El Prof. Dr. D. Francisco J. Martínez Tello, Jefe del Dpto. de Anatomía Patológica del Hospital Doce de Octubre, y los demás compañeros del Dpto. aportaron sus ideas y su disponibilidad.

La Dra. Dña. Ana Cabello Fernández, Jefe de la Sección de Neuropatología del Hospital Doce de Octubre, facilitó la utilización de todo el material necesario para el estudio de los aspectos óptico, ultraestructural y morfométrico de este trabajo. Aportó también ideas sobre aspectos metodológicos basadas en su dilatada experiencia en el estudio anatomopatológico del sistema nervioso periférico.

Dña. María Jesús Torres, Don Salvador Romero y Dña. María Teresa Martínez, ATS de la Sección de Neuropatología, realizaron toda la parte técnica del estudio anatomopatológico.

El Dr. D. Juan Manuel Oñate Cuchet participó activamente en el desarrollo de la fase experimental.

El Dr. D. Julio Ferrero Arias facilitó la utilización del programa estadístico SPSS y contribuyó de forma inestimable al análisis estadístico de los resultados.

El Dr. D. Joaquín Arenas Barbero permitió la utilización del material necesario para el estudio de los aspectos bioquímicos de este trabajo. Su gran experiencia fué esencial para el análisis de los resultados bioquímicos.

El Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social ayudó económicamente de forma apreciable.

Finalmente, Maril, Gon, Acho y Popi aportaron tiempo, amistad y cariño, y su contribución para la realización de esta Tesis fué decisiva.

A todos ellos, mi más sincero agradecimiento.

ABREVIATURAS

AC	Acil carnitina
AC/CL	Cociente acil carnitina/carnitina libre
AMP	Adenosín monofosfato
ANOVA	Análisis de la varianza
ATP	Adenosín trifosfato
ATPasa	Adenosintrifosfatasa
BHE	Barrera hematoencefálica
CAT	Carnitina acetil transferasa
CD-ROM	Compact Disk-Read Only Memory
CK-MB	Creatinquinasa MB
CL	Carnitina libre
CoA	Coenzima A
CPT	Carnitina palmitoil transferasa
CTA	Carnitina acetil transferasa
CTOT	Carnitina total
DE	Desviación estándar
EEM	Error estándar de la media
ELD	Músculo extensor largo de los dedos
FFA	Acidos grasos libres
GABA	Acido γ -aminobutírico
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HE	Hematoxilina y eosina
IC 95%	Intervalo de confianza de la media del 95%
IV	Intravenosa
LCAC	Acil carnitina de cadena larga
LCFA	Acido graso de cadena larga
LCR	Líquido cefalorraquídeo
MPTP	Metil-fenil-tetrahidropiridina
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido

NCP	Proteína no colágena
PAS	Acido peryódico de Schiff
PC	Ordenador personal
SCAC	Acil carnitina de cadena corta
SDC	Síndrome por deficiencia en carnitina
SDH	Succínico deshidrogenasa
SNC	Sistema nervioso central
SPSS	Paquete estadístico para ciencias sociales
VPA	Acido valproico
VPS	Valproato sódico

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Peso corporal al inicio y al final de la fase experimental	93
Figura 2.- Niveles medios de CL, SCAC y LCAC en plasma	94
Figura 3.- Niveles medios de CL, SCAC y LCAC en hígado	95
Figura 4.- Niveles medios de CL, SCAC y LCAC en músculo sóleo	96
Figura 5.- Diámetro medio de las fibras tipo I y tipo II en el músculo sóleo	97
Figura 6.- Diámetro medio de las fibras tipo I y tipo II en el músculo ELD	98
Figura 7.- Densidad de volumen mitocondrial en los músculos sóleo y ELD	99
Figura 8.- Grosor de la banda Z en los músculos sóleo y ELD	100

INTRODUCCION

La carnitina es un cofactor esencial en el metabolismo de los ácidos grasos cuya acción a distintos niveles permite la entrada de ácidos grasos de cadena larga al interior de la mitocondria así como el mantenimiento de un cociente CoA/acil-CoA intramitocondrial adecuado (Bremer J, 1983), de manera que dos de los trastornos clínicos producidos por la deficiencia de carnitina de cualquier causa son la miopatía lipídica y la hepatotoxicidad en forma de crisis de insuficiencia hepática aguda de tipo Reye (Engel AG, 1986b; Coulter DL, 1991)

El mecanismo patogénico más probable en la miopatía lipídica secundaria a deficiencia de carnitina es la acumulación de lípidos en el sarcoplasma debido a la imposibilidad que tienen los LCFA para atravesar la membrana mitocondrial e introducirse en la cascada de la β -oxidación de los ácidos grasos, mientras que en lo relativo a los cuadros agudos de hepatotoxicidad el mecanismo patogénico posible es la acumulación intramitocondrial de grupos acil-CoA de carácter tóxico para cadena respiratoria y otros procesos mitocondriales (Engel AG, 1986b).

Por otra parte, la administración de carnitina exógena a los pacientes con deficiencia de carnitina es capaz de revertir estos efectos debido a que al reestablecer los depósitos intramitocondriales de carnitina puede seguir ejerciendo su acción de tamponamiento de los grupos acil-CoA y puede seguir introduciendo los LCFA hacia el interior de la mitocondria (Ohtani Y et al, 1982).

El ácido valproico (VPA) es un ácido graso de cadena corta muy utilizado en clínica como fármaco antiepiléptico, y uno de cuyos efectos secundarios es la producción de deficiencia plasmática de carnitina con carácter dependiente de la dosis (Ohtani Y et al, 1982). El mecanismo bioquímico más probable para explicar el efecto del VPA sobre el metabolismo de la carnitina es la producción excesiva de grupos acil-CoA de cadena corta intramitocondriales, principalmente acetil-CoA y valproil-CoA, que son eliminados de la mitocondria por acción de la carnitina, produciéndose secundariamente una deficiencia de la misma a niveles plasmático y tisular (Bohan TP et al, 1984).

En clínica humana, el VPA ha inducido la aparición de crisis de insuficiencia hepática aguda de tipo Reye (Sackellares JC et al, 1979; Sugimoto T et al, 1983; Coulter DL, 1984; Triggs WJ et al, 1990) y de cuadros de miopatía lipídica (Shapira Y et al, 1991), efectos que han sido atribuidos a deficiencia de carnitina en plasma y que frecuentemente han revertido o mejorado tras la administración de carnitina exógena.

En el plano experimental, en los escasos estudios llevados a cabo a este respecto, el VPA ha dado lugar a alteraciones en el metabolismo de la carnitina tanto en plasma como en hígado, músculo esquelético y otros tejidos, aunque con resultados no siempre coincidentes.

Pese a que, a nivel plasmático parece bien establecida la relación entre administración de VPA y aparición de deficiencia en carnitina, son muy escasos los datos que existen a este respecto en otros tejidos, y prácticamente inexistentes los relativos a la traducción morfológica de

estos efectos bioquímicos.

I. Carnitina y síndromes por deficiencia de carnitina

El ácido 3-hidroxi-4-N-trimetil-aminobutírico (β -hidroxibutirobetaina, l-carnitina) es un cofactor esencial en el metabolismo de los ácidos grasos, cuyas dos principales funciones son la transferencia de ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana interna mitocondrial y la modulación del cociente CoA/acil-CoA intramitocondrial (Bremer J, 1983). Posteriormente, se ha señalado que otra importante acción de la carnitina es la eliminación de residuos acil de cadena corta producidos en la mitocondria y de origen exógeno como los ácidos benzóico y valproico (Siliprandi N et al, 1990).

En clínica se reconocen dos formas de síndrome por deficiencia en carnitina (SDC), la forma miopática y la sistémica (Engel AG, 1986b).

La forma miopática fué identificada por primera vez por Engel y Angelini en 1973, en una paciente que presentaba debilidad muscular, deficiencia de carnitina en músculo esquelético y miopatía lipídica (Engel AG et al, 1973), que constituyen precisamente las características principales del SDC miopático. Por otra parte, la deficiencia de carnitina constituye la causa más frecuente, aunque no la única, de miopatía lipídica (Brownell AKW et al, 1978), cuadro que se caracteriza a nivel anatomopatológico por la acumulación de lípido (principalmente triglicéridos) en el músculo esquelético

en forma de corpúsculos no revestidos de membrana situados en filas paralelas entre las miofibrillas o en la zona subsarcolemal, acompañado frecuentemente por alteraciones mitocondriales consistentes en incremento en el número o tamaño de las mitocondrias, presencia de inclusiones cristalinas o paracristalinas intramitocondriales y borramiento de las crestas (Engel AG, 1986b).

El SDC sistémico fué identificado en primer lugar por Karpati y colaboradores en 1975 (Karpati G et al, 1975). Esta forma de SDC cursa con episodios de insuficiencia hepática aguda de tipo Reye con estupor progresivo, coma, hipoglucemia e hiperamonemia. Los pacientes presentan también debilidad muscular, hipocarnitinemia, deficiencia de carnitina en músculo y otros tejidos, y miopatía lipídica. A nivel morfológico, se observa la acumulación de lípido neutro en diversos tejidos, principalmente hígado, músculo esquelético y miocardio, así como un aumento de tamaño de las mitocondrias en asociación con el incremento del número y tamaño de los glóbulos lipídicos en varios tejidos como hígado y SNC (Kimura et al, 1990).

La mayor parte de los SDC, tanto miopáticos como sistémicos, son secundarios a defectos genéticos del metabolismo intermedio o bien a otros procesos que pueden cursar con deficiencia nutricional de carnitina, disminución en su biosíntesis, alteraciones en el control renal de la carnitina o trastornos en el transporte activo de la carnitina en células y tejidos; no obstante, el mecanismo patogénico más frecuente en los SDC es la eliminación excesiva de ésteres de carnitina por la acumulación intramitocondrial de acil-CoA de diferente

origen, de manera que la formación excesiva de acilcarnitinas y su eliminación por orina provocarían la deficiencia de carnitina (Engel AG, 1986b).

Con respecto al tratamiento de los SDC, la mayor parte de los pacientes ha respondido en mayor o menor medida a la administración de carnitina exógena (Karpati G et al, 1975; Chapoy PF et al, 1980; Prockop LD et al, 1983; DiDonato S et al, 1984), aunque en un cierto número de casos no se ha obtenido respuesta (Carroll JE et al, 1980) con este tratamiento. En términos generales, la dosis de mantenimiento ha oscilado entre 2 y 4 g/día, por vía intramuscular.

II. El ácido valproico y sus efectos sobre el metabolismo de la carnitina

El ácido 2-propilpentanoico (ácido valproico, VPA) es un ácido graso de cadena corta (isómero del ácido octanoico) que está comercializado en forma de sal sódica y que se utiliza en clínica fundamentalmente como fármaco antiepiléptico.

Constituye uno de los agentes anticomiciales de primera línea para crisis generalizadas y parciales, y en 1988 se calculaba que lo estaban tomando más de 1.000.000 de pacientes en todo el mundo (Binek J et al, 1991); se administra por vía oral a dosis que oscilan entre 15 y 30 mg/kg para alcanzar niveles plasmáticos terapéuticos.

Su metabolismo se realiza en el hígado mediante

glucuronidación, β -oxidación mitocondrial y ω -oxidación microsomal, principalmente a través de la primera vía para dosis terapéuticas (Chapman A et al, 1982).

En lo relativo a la β -oxidación, se dirige mediante difusión desde el citosol hasta la matriz mitocondrial, donde es activado por la acil-CoA sintetasa correspondiente para formar 2-propilpentanoil-CoA (valproil-CoA) que se introduce en la secuencia oxidativa (Ontko JA, 1986).

A nivel clínico, su principal efecto secundario es la hepatotoxicidad, que se manifiesta fundamentalmente en forma de elevaciones asintomáticas de las transaminasas y en forma de cuadros de insuficiencia hepática aguda de tipo Reye con estupor, coma e hiperamonemia, cuya incidencia se ha estimado en aproximadamente 1 caso por cada 7.000 pacientes que reciben VPA (Powell-Jackson PR et al, 1984).

Los cuadros de tipo Reye asociados al tratamiento con VPA fueron observados inicialmente en los años 1979 y 1980 (Sackellares JC et al, 1979; Geber N et al, 1979; Young RSK et al, 1980; Coulter DL et al, 1980).

En 1981, Coulter y Allen observaron que los pacientes tratados con VPA podían presentar hiperamonemia incluso sin signos bioquímicos de disfunción hepática, atribuyendo esta alteración a un incremento en los niveles de propionato con inhibición secundaria de la enzima intramitocondrial del ciclo de la urea carbamilfosfato sintetasa (Coulter DL et al, 1981).

No obstante, Coude y colaboradores, en un estudio experimental efectuado ese mismo año, administraron VPA a ratas y observaron hiperamoniemia con niveles normales de carbamil-fosfato sintetasa, ornitina transcarbamilasa y N-acetilglutamato sintetasa, proponiendo que la causa de la hiperamoniemia podía ser una reducción de N-acetil glutamato en el hígado con la consiguiente disminución de la citrulinogénesis (Coude FX et al, 1981).

En 1982, Ohtani y colaboradores realizaron por primera vez la medición de los niveles de carnitina en plasma en relación con los niveles de amoniaco en pacientes tratados con VPA. Este grupo de investigación observó que las concentraciones plasmáticas de carnitina libre y total aparecían significativamente reducidas en pacientes tratados con VPA, en comparación con las observadas en pacientes epilépticos tratados con otras medicaciones anticomiciales y también en comparación con las concentraciones del grupo control, de manera que en estos dos últimos grupos las concentraciones de carnitina fueron prácticamente similares. No obstante, el cociente carnitina libre/carnitina total no presentó diferencias en los tres grupos de estudio.

Se observó también una correlación inversa significativa entre la concentración plasmática de carnitina y la dosis de VPA. Por otra parte, las concentraciones séricas de amoniaco en los pacientes tratados con VPA fueron significativamente mayores que en los pacientes de los otros dos grupos. Estas concentraciones se correlacionaron con la dosis de VPA y presentaron una relación inversa significativa con las concentraciones plasmáticas de carnitina.

Tras la administración oral de carnitina a los pacientes tratados con VPA se normalizaron los niveles sanguíneos de amoniaco y las concentraciones plasmáticas de carnitina.

Los autores de este estudio atribuyeron la hipocarnitinemia a un efecto adverso dosis-dependiente del VPA, aunque señalaron que "... en el momento presente no existen datos para explicar la deficiencia de carnitina en los pacientes tratados con VPA." (Ohtani Y et al, 1982).

También en 1982 aparecen las primeras referencias que relacionan al VPA con la aparición de cuadros de tipo Reye y con la presencia de hipocarnitinemia (Böhles H et al, 1982).

Stumpf y colaboradores señalaron en 1983 que la toxicidad del VPA puede ser debida a la acumulación de metabolitos acil-CoA que inhiben el ciclo del citrato y otros sistemas enzimáticos. La carnitina podría disminuir este efecto al transformar los acil-CoA tóxicos en compuestos acil-carnitina de carácter menos tóxico, sugiriendo la formación de valproil-carnitina (Stumpf DA et al, 1983). Esta hipótesis se vió corroborada posteriormente por Veitch y colaboradores que incubaron mitocondrias de hígado de rata con VPA concluyendo que la inhibición que produce este ácido graso de cadena ramificada sobre la β -oxidación mitocondrial puede ser debida al secuestro de CoA en forma de valproil-CoA (Veitch K et al, 1990).

En 1983, Thurston y colaboradores señalaron que la administración crónica de valproato disminuye la cetogénesis en ayunas en los niños, proponiendo que la toxicidad hepática del VPA está en relación con la

hipocetonemia y no con los niveles de carnitina (Thurston JH et al, 1983). No obstante, DiDonato y colaboradores ya habían observado en 1980 la importancia de los niveles hepáticos de carnitina para la activación de la cetogénesis (DiDonato S et al, 1980).

David L. Coulter propuso en 1984 que el mecanismo de la hepatotoxicidad del VPA es la deficiencia de carnitina en plasma e hígado a que da lugar, con la consiguiente alteración en el metabolismo de los SCFA-LCFA y su relación con los cuadros clínicos de tipo Reye (Coulter DL, 1984). Murphy JV y colaboradores apoyaron esta posibilidad tras el estudio de las concentraciones plasmáticas de carnitina libre en un grupo de 13 niños tratados con VPA (Murphy JV et al, 1985).

En este mismo año de 1984, Bohan y colaboradores de la Duke University y el NIH estadounidenses identificaron un nuevo metabolito del ácido valproico: la valproil-carnitina (Bohan TP et al, 1984). La detección de valproil-carnitina en la orina de los pacientes tratados con VPA sugirió a estos investigadores que el ácido valproico, un isómero del ácido octanoico, podía constituir el substrato para alguna de las carnitina aciltransferasas y que la conjugación y eliminación de valproil-carnitina podría dar lugar a deficiencia de carnitina en pacientes que reciben VPA de forma crónica. La técnica utilizada para la caracterización de valproil-carnitina fué la combinación de fast atom bombardment-mass spectrometry con thermospray high performance liquid chromatography-mass spectrometry (Millington DS et al, 1985).

El descubrimiento de la valproil-carnitina tiene una gran importancia debido a que, con excepción del glucurónido, constituye el único conjugado conocido del ácido valproico. Además, constituye la primera forma conocida de conjugación de la carnitina con un fármaco.

Probablemente, la valproil-carnitina se sintetiza por la acción de una o más de las carnitina-aciltransferasas (muy posiblemente la carnitina-octanoiltransferasa) sobre el metabolito intermedio activado valproil-CoA, en base fundamentalmente a la similitud estructural del ácido valproico con otros ácidos de cadena ramificada que forman acilcarnitinas (Millington DS et al, 1985).

No obstante, estos investigadores contemplaron también la posibilidad de que la hipocarnitinemia fuera debida a una eliminación excesiva de acetil-carnitina, la acilcarnitina predominante en la orina de sus pacientes, dado que la valproil-carnitina constituía menos del 10% de la acilcarnitina (Bohan TP et al, 1984).

En los últimos años se han realizado varios ensayos clínicos y experimentales en relación con los efectos del VPA sobre el metabolismo de la carnitina y la posible reversión de los mismos por la administración de carnitina exógena.

En clínica humana se ha estudiado casi exclusivamente la respuesta de los niveles plasmáticos de CL y AC frente a la administración de VPA a pacientes epilépticos, de manera que en casi todas las series se ha observado una disminución en la concentración plasmática de CL y un incremento en la de AC (Laub N et al, 1986; Triggs WJ et al, 1990; Melegh B et al, 1990; Beghi E et al, 1990;

Matsumoto K et al, 1990; Opala G et al, 1991; Riva R et al, 1991; Shapira Y et al, 1991).

Únicamente en el último de los estudios citados se hace referencia a la respuesta de los niveles tisulares de CL frente a la administración de VPA, concretamente en músculo esquelético donde los autores observan una disminución de la concentración de carnitina libre en 6 de un grupo de 7 pacientes tratados con VPA (Shapira Y et al, 1991). Es también esta serie la única en la que se ha estudiado anatomopatológicamente el músculo esquelético de pacientes en tratamiento con VPA, demostrándose la presencia de las características ultraestructurales de la miopatía lipídica en 3 de los pacientes (Shapira Y et al, 1991).

En general, los pacientes tratados con VPA no presentan sintomatología clínica por la deficiencia de carnitina, aunque en algunos casos la hipocarnitinemia ha dado lugar crisis de tipo Reye indistinguibles de las que se observan en los síndromes por deficiencia sistémica de carnitina (Coulter DL, 1991), y en otros casos los pacientes han presentado cuadros de debilidad muscular e hipotonía generalizada con las alteraciones anatomopatológicas de la miopatía lipídica (Shapira Y et al, 1991).

La administración de carnitina exógena a pacientes tratados con VPA ha permitido corregir en la mayor parte de los casos las alteraciones plasmáticas en los niveles de CL y AC (Ohtani Y et al, 1982; Melegh B et al, 1990).

Desde el punto de vista experimental, sólomente han planteado el problema de los efectos del VPA sobre el

metabolismo de la carnitina los grupos de investigación de Sugimoto en la Kansai Medical University de Osaka (Sugimoto T et al, 1987a; Sugimoto T et al, 1987b; Nishida N et al, 1987; Murakami K et al, 1990), y de Rodriguez Segade de la Universidad de Santiago de Compostela (Rozas I et al, 1990; Camiña MF et al, 1991a; Camiña MF et al, 1991b).

En la rata Wistar, el VPA ha producido una disminución significativa de CL con incremento de AC en plasma y músculo esquelético, aunque no en hígado (Sugimoto T et al, 1987a; Sugimoto T et al, 1987b; Nishida N et al, 1987; Murakami K et al, 1990). En el ratón Swiss albino, se ha observado que el VPA disminuye de forma no significativa la concentración de CL en plasma, hígado, riñón y corazón cuando se administra en forma de dosis única (Rozas I et al, 1990; Camiña MF et al, 1991a), mientras que sólo disminuye de forma significativa los niveles de CL plasmáticos cuando se administra de forma más prolongada (Camiña MF et al, 1991b).

Con respecto a las posibles alteraciones morfológicas inducidas en los tejidos por la administración de VPA, la información que existe en la literatura médica es muy escasa puesto que únicamente en dos de los modelos experimentales citados se ha estudiado desde el punto de vista anatomopatológico el hígado de ratas Wistar tratadas con VPA, observándose en ambos un incremento en la superficie de las mitocondrias en este tejido (Sugimoto T et al, 1987a; Murakami K et al, 1990). No existe en el momento actual ningún estudio experimental en el que se hayan estudiado de forma sistemática las características morfológicas del músculo esquelético, hígado y corazón en pacientes o animales de

experimentación tratados con VPA.

La modificación de los efectos que produce el VPA sobre el metabolismo de la carnitina por la administración de carnitina exógena a animales de experimentación sólo ha sido estudiada por el equipo de Tateo Sugimoto, que ha observado una reversión de los mismos (Nishida N et al, 1987; Sugimoto T et al, 1987b).

Como resumen de lo expuesto se puede destacar que:

1. En la actualidad se acepta que el ácido valproico produce alteraciones en el metabolismo de la carnitina, con aparición de deficiencia de carnitina en plasma en la mayor parte de los pacientes y animales de experimentación que lo reciben; que este efecto puede tener un carácter dependiente de la dosis de VPA utilizada, y que la administración de carnitina exógena puede revertir los efectos del VPA sobre el metabolismo de la carnitina.

2. Son muy escasamente conocidos los efectos que puede producir el VPA sobre el metabolismo de la carnitina a nivel tisular, así como las posibles modificaciones que en los mismos podría dar lugar la administración de carnitina exógena.

3. Son muy escasos los estudios anatomopatológicos efectuados sobre las alteraciones que la deficiencia de carnitina secundaria a la administración de VPA puede producir sobre los tejidos de pacientes o animales de experimentación tratados con este fármaco antiepiléptico, así como las posibles modificaciones que

en las mismas podría dar lugar la administración de carnitina exógena.

Por todo ello, hemos diseñado un modelo experimental sobre rata Wistar para conocer los efectos del VPA sobre el metabolismo de la carnitina y sus repercusiones sobre los niveles plasmáticos, hepáticos y musculares de CL y AC; para estudiar la posible traducción morfológica de estos efectos del VPA, y para comprobar las modificaciones que introduce en los mismos la administración de carnitina exógena.

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

La hipótesis planteada en este trabajo es la de que si el ácido valproico produce deficiencia de carnitina, y la deficiencia de carnitina produce acumulación de lípido en los tejidos, entonces la administración de carnitina exógena puede revertir el ambos efectos, directo e indirecto, del ácido valproico.

El objetivo general del presente trabajo es el de comprobar en un modelo experimental las alteraciones que puede producir el ácido valproico sobre el metabolismo de la carnitina, la posible traducción morfológica de estas alteraciones, y la posible reversión de las mismas por la administración de carnitina exógena.

Este objetivo general se plasma en los siguientes objetivos concretos:

1. Conocer el efecto producido por el ácido valproico sobre el peso y la evolución de los animales tratados con el mismo.

2. Conocer el efecto producido por el ácido valproico sobre los niveles plasmáticos, musculares y hepáticos de carnitina libre, acilcarnitina de cadenas larga y corta, y carnitina total, y sobre el cociente acilcarnitina/carnitina libre en los tres compartimentos.

3. Conocer el efecto producido por el VPA sobre las características generales, diámetro de las fibras y densidad de volumen mitocondrial en el músculo esquelético, así como la posible aparición de depósito lipídico en músculo esquelético, hígado y corazón.

4. Conocer si los efectos que puede producir el ácido valproico sobre el metabolismo de la carnitina tienen carácter dependiente de la dosis.

5. Conocer las modificaciones que la administración de carnitina exógena puede producir sobre los efectos que el ácido valproico puede inducir en el metabolismo de la carnitina.

MATERIAL Y METODOS

I. Material

Se utilizaron 30 ratas Wistar hembra de una cepa procedente de Panlab SL (Madrid), criadas en el Departamento de Medicina Experimental del Hospital "Gregorio Marañón" de Madrid, libres de ecto y endoparásitos, micoplasmas y pasteurella, con un peso inicial comprendido entre 160 g y 180 g, y con una edad comprendida entre 49 días y 52 días.

Durante el periodo de experimentación, los animales permanecieron en cubetas de Makrolon de 40 X 25 X 15 cm, sobre una base de serrín, en grupos de cinco, con alimentación y bebida ad libitum a base de pienso comercial para animales de laboratorio (Letika^R) y agua corriente no tratada. Las cubetas se mantuvieron en una habitación con temperatura y humedad relativa constantes de 22°C y 55±10%, respectivamente, y con un fotoperiodo de 12 horas (7,30 AM a 7,30 PM).

Las líneas de actuación que se han seguido en cuanto a habitáculos y accesorios de los animales, alimentación, manejo, vigilancia, control sanitario, saneamiento ambiental y comportamiento ético con los animales se han ajustado a las normas recomendadas por la ICLAS (International Council for Laboratory Animal Science) y por la Asamblea Parlamentaria del Consejo de Europa sobre "La utilización de los animales vivos con fines experimentales o industriales" celebrada en Septiembre de 1982 en Estrasburgo (Francia) (Saiz Moreno L et al, 1983).

II. Métodos

II.A. Desarrollo de la fase experimental

La fase experimental se desarrolló durante 90 días, desde el 17 de Febrero de 1991 hasta el 17 de Abril de 1991, periodo durante el cual los animales recibieron la medicación diariamente en una sola toma (a las 8 AM) y en intervalos de 6 días, con un día de descanso al final de cada uno de estos intervalos. Es decir, no recibieron la medicación los días 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, y 84 del periodo de experimentación, por lo que en conjunto fueron tratadas farmacológicamente durante un total acumulado de 78 días.

La carnitina se administró mediante inyección intramuscular en la masa glútea de la extremidad posterior derecha. La solución administrada de esta forma se preparaba inmediatamente antes de la inyección disolviendo en 45 ml de agua destilada los 5 ml de una ampolla de Carnicor^R (Sigma-Tau España) que contienen 1 g de l-carnitina, de forma que cada ml de la solución contenía 20 mg de l-carnitina.

El ácido valproico se administró por vía oral utilizando una cánula de 0.2 cm de calibre y 5.5 cm de longitud que se introduce fácilmente a través de la cavidad oral y el esófago hasta el estómago de la rata dado que este animal carece de reflejo del vómito de origen faríngeo. La solución se preparaba inmediatamente antes de su administración disolviendo en 47,5 ml de agua destilada 2.5 ml de Depakine^R (Labaz, España) que contiene 20 g/100 ml de valproato sódico, de forma que cada ml de la solución resultante contenía 10 mg de valproato sódico.

Las ratas fueron distribuidas de forma aleatoria y equilibrada según los pesos en 6 grupos de 5 animales cada uno, y las características de tratamiento y dosificación de cada grupo fueron las siguientes:

Grupo 1: Considerado como grupo control, no recibió ninguna de las dos medicaciones.

Grupo 2: Recibió 15 mg/día de valproato sódico (1,5 ml/día de la solución de Depakine^R) por vía oral.

Grupo 3: Recibió 25 mg/día de valproato sódico (2,5 ml/día de la solución de Depakine^R).

Grupo 4: Recibió 15 mg/día de valproato sódico por vía oral más 10 mg/día de carnitina (0,5 ml/día de la solución de Carnicor^R) por vía intramuscular.

Grupo 5: Recibió 25 mg/día de valproato sódico por vía oral más 10 mg/día de carnitina por vía intramuscular.

Grupo 6: Recibió 10 mg/día de carnitina por vía intramuscular.

Se efectuó el pesaje de los animales al inicio de la fase experimental, a los cinco días de iniciada la misma, y posteriormente cada siete días (días 17-2, 22-2, 29-2, 07-3, 14-3, 21-3, 28-3, 11-4, 18-4, 25-4 y 02-5 de 1991). El peso medio de las 30 ratas al inicio de la fase experimental fué de 171,7 g, lo que hace que en este momento la dosis de VPA de 15 mg/día correspondiera a 87,36 mg/kg/día y la de 25 mg/día a 145,6 mg/kg/día, mientras que al final de la fase experimental (con un

peso medio de las 30 ratas de 266 g) estas correspondencias fueron de 56,4 mg/kg/día y 94,0 mg/kg/día, respectivamente.

La carnitina se administró a una dosis de 10 mg/día, que corresponden a 58,24 mg/kg/día al inicio de la fase experimental, y a 37,6 mg/kg/día al final de la fase experimental.

Durante los 90 días de la fase de experimentación no se detectaron incidencias ni se produjo el fallecimiento de animales.

El día 90 del periodo experimental las ratas fueron sacrificadas mediante fractura cervical previa anestesia con tiopental sódico (Pentotal sódico, Laboratorios Abbott) por vía intraperitoneal a una dosis de 3 mg/kg. De forma inmediata, se realizó la disección de la extremidad posterior izquierda para aislar y extraer los músculos sóleo y extensor largo de los dedos (ELD). De forma prácticamente simultánea se realizó la autopsia reglada a cada animal, incluyendo el sistema nervioso central.

Durante la autopsia, y después de exponer el contenido de la cavidad torácica tras incisión cutánea y sección costal, se efectuó la punción del ventrículo izquierdo con extracción de un volumen de sangre intracardiaca que osciló entre 1,5 y 3,2 ml.

II.B. Metodología del estudio bioquímico

El estudio bioquímico se efectuó sobre muestras de

músculo sóleo, hígado y plasma. El músculo y el hígado se congelaron directamente en nitrógeno líquido tras el sacrificio de las ratas, y el plasma se obtuvo mediante centrifugación de la sangre intracardiaca.

Se realizó la determinación de los niveles de carnitina libre (CL), ésteres acil-carnitina de corta cadena (SCAC) y ésteres acil-carnitina de larga cadena (LCAC) en homogenados de músculo sóleo, plasma e hígado de cada rata, siguiendo básicamente el método radioenzimático descrito por DiDonato y colaboradores (DiDonato S et al, 1984).

II.C. Metodología del estudio anatomopatológico

II.C.1. Microscopía óptica

En cada rata, se efectuó el estudio microscópico óptico de muestras de los músculos sóleo y ELD, hígado y corazón.

Todas las preparaciones para microscopía óptica fueron estudiadas con un microscopio Laborlux 11 de Leitz^R

II.C.1.a. Músculo esquelético

Se eligieron los músculos sóleo y ELD debido a que sus características han sido bien estudiadas en la rata y a que están compuestos por poblaciones de fibras muy diferentes: el sóleo presenta aproximadamente un 87% de fibras tipo I (contracción lenta, oxidativas), y el ELD aproximadamente un 97% de fibras tipo II (contracción rápida, glucolíticas) (Armstrong RB et al, 1984).

Tras su extracción del miembro posterior izquierdo de cada rata, se efectuaron varios cortes transversales en la parte central de los vientres de ambos músculos. Estos cortes transversales fueron orientados, montados en medio acuoso (Tissue Tek OCT^R, Miles 4583), congelados durante 2 minutos en isopentano (2-metil-butano, Fluka Chemie AG 59075^R) previamente enfriado hasta aproximadamente -150°C por contacto a través de cristal con nitrógeno líquido, y conservados posteriormente inmersos en nitrógeno líquido a una temperatura similar a la indicada. En una fase posterior, los músculos congelados de esta forma fueron cortados en criostato a -20°C , obteniéndose cortes seriados de aproximadamente $6\ \mu$ de grosor que fueron colocados sobre portaobjetos y conservados en congelador a -20°C hasta la realización de las técnicas de histoquímica.

En cada músculo, sóleo y ELD, de cada rata se efectuaron las siguientes tinciones y técnicas de histoquímica:

- 1) Hematoxilina-eosina (HE)
- 2) Acido peryódico de Schiff (PAS) para demostración de glucógeno
- 3) NADH-deshidrogenasa (Nachlas MM et al, 1958)
- 4) ATPasa con preincubación a pH 9,4 (ATP-asa A) (Round JM et al, 1980)
- 5) ATPasa con preincubación a pH 4,6 (ATP-asa B) (Round JM et al, 1980)
- 6) ATPasa con preincubación a pH 4,2 (ATP-asa C) (Round

JM et al, 1980)

7) SDH (succínico deshidrogenasa) para demostración de enzimas oxidativas intramitocondriales

8) Sudán Rojo para demostración de lípidos neutros

II.C.1.b. Hígado

Tras la extracción del paquete visceral en la autopsia, de cada rata se tomaron dos cuñas de tejido hepático de un tamaño aproximado de 2 X 1 X 0.5 cm. Una de estas muestras fué congelada de forma directa a -70° C para su estudio bioquímico. La otra muestra fué fijada en formaldehído al 10% tamponado y posteriormente dividida en dos fragmentos de tamaño similar.

Uno de estos fragmentos fué incluido en bloques de parafina de donde se realizaron cortes de 7μ de espesor. Sobre estos cortes se realizaron técnicas de HE, PAS, tricrómico de Masson y reticulina. El otro fragmento fijado en formalina fué congelado, realizándose cortes de 6μ de grosor sobre el bloque congelado. Estos cortes fueron teñidos con la técnica de Sudán Rojo descrita en el apartado anterior.

II.C.1.c. Corazón

Tras la extracción del paquete visceral en la autopsia, se extrajo la víscera cardiaca íntegra que se fijó en formaldehído al 10% tamponado. Posteriormente se realizaron dos secciones transversales a través de la

parte superior de los ventrículos. Una de estas secciones fué incluida en bloques de parafina de donde se relizaron cortes de 7 μ de espesor que fueron teñidos con HE. La otra sección fué congelada a -70° C, realizandose cortes de 6 μ de grosor sobre el bloque congelado. Estos cortes fueron teñidos con la técnica de Sudán Rojo descrita anteriormente.

II.C.2. Microscopía electrónica

El estudio ultraestructural se realizó sobre muestras de músculo sóleo y músculo ELD.

Inmediatamente tras su disección, y antes de congelarlos en isopentano, se cortaron pequeños fragmentos longitudinales de los músculos sóleo y ELD, fragmentos que fueron fijados en glutaraldehído al 5% tamponado con buffer de cacodilato 0.1 M a 4° C. Al cabo de 2 horas de la fijación los fragmentos de músculo fueron lavados en tres pases de buffer de cacodilato 0,1 M durante 7 días. Posteriormente se realizó la postfijación de los mismos con tetróxido de osmio al 2% en buffer de cacodilato 0,1 M durante 3 horas, deshidratandolos con etanol a concentraciones crecientes e incluyendolos en resina Epon^R, orientados para secciones longitudinales.

Se realizaron cortes semifinos de 0.5 μ teñidos con azul de toluidina en los que se seleccionaron las áreas mejor orientadas y conservadas. Por último, se efectuaron cortes ultrafinos de estas áreas, tiñendolos con acetato de uranilo y citrato de plomo y examinandolos y fotografiandolos en un microscopio electrónico Hitachi H2JA.

Para el estudio ultraestructural, se incluyeron en

conjunto los músculos sóleo y ELD de los animales de cada grupo de tratamiento, de manera que la microscopía electrónica se realizó sobre 12 casos, constituido cada uno de ellos por la mezcla de los cinco músculos sóleo o de los cinco músculos ELD de cada grupo de tratamiento. Se asumió que los cinco músculos, sóleo y ELD, de cada grupo ultraestructural presentaban características homogéneas y que las fibras observadas en el estudio ultraestructural corresponderían con mayor probabilidad a las predominantes en cada músculo, es decir, tipo I en el sóleo y tipo II en el ELD; de todas formas, el estudio morfométrico realizado sobre la densidad de volumen mitocondrial y sobre el grosor de la banda Z nos permitió confirmar esta suposición.

Además del estudio mediante visión directa de estos doce casos, se realizaron seis fotografías ultraestructurales (de la parte central de las fibras, alejadas de la zona subsarcolemal) de cada uno de ellos a 12.200 aumentos, lo que hace que las copias fotográficas muestren una imagen aumentada 38.400 veces sobre una superficie para cada copia fotográfica de $29 \mu^2$. Las tres fotografías más representativas de cada caso fueron utilizadas para el estudio morfométrico del área mitocondrial y del grosor de la banda Z, según se detalla en el apartado de Morfometría.

II.C.3. Morfometría

El estudio morfométrico se ha efectuado mediante métodos estereológicos basados en los principios de probabilidad geométrica que permiten cuantificar estructuras tridimensionales a partir del estudio de cortes

bidimensionales de las mismas (Engel AG, 1986a).

Se ha realizado el estudio morfométrico de las muestras de músculo esquelético, tanto a nivel óptico como ultraestructural.

En lo relativo a la microscopía óptica, en cada músculo (sóleo y ELD) de cada animal se midieron los diámetros de las fibras completas incluidas en un total de 4 campos de 400 aumentos, escogiendo los campos menos artefactados y mejor orientados. Los diámetros medidos correspondieron al "mayor perpendicular al mayor" (Brooke MH et al, 1969). Las mediciones se efectuaron sobre las preparaciones de ATPasa A y ATPasa B, clasificando las fibras en tipo I y tipo II.

Con respecto a la microscopía electrónica, se midió la anchura de 30 de las bandas Z de las fibras elegidas, así como el número y área ocupada por las mitocondrias completas incluidas en las tres fotografías ultraestructurales (superficie total de $87 \mu^2$) más representativas de las seis realizadas por cada caso. En el estudio del área mitocondrial se incluyó la densidad de volumen mitocondrial en aplicación del principio de Delesse, que señala que la densidad de volumen de un componente en una estructura tridimensional es igual a la densidad de área de ese componente en un plano que corta la estructura tridimensional (Engel AG, 1986a).

Como instrumento de medición, almacenamiento de datos, cálculo de la estadística descriptiva y realización de histogramas de frecuencia de las mediciones efectuadas con microscopía óptica y electrónica se utilizó un equipo básico de análisis de imagen constituido por hardware

MOP-Videoplan (CP/M 2.2) como soporte del programa de morfometría Kontron V5.42, acoplado a una videocámara y un monitor de vídeo, y como periférico interactivo un tablero de digitalización electromagnética con pluma, según especificaciones convencionales (Marchevsky AM et al, 1987).

II.D. Metodología del estudio estadístico

El análisis estadístico se ha efectuado por separado para las muestras estudiadas mediante bioquímica, morfometría óptica y morfometría ultraestructural.

Las tablas correspondientes a la estadística descriptiva se refieren a cada una de las variables analizadas e incluyen el grupo, la media aritmética, la desviación estándar (DE), el error estándar de la media (EEM) y el intervalo de confianza del 95% de la media (IC 95%).

En cada uno de estos tres grupos de análisis estadístico se ha realizado inicialmente un análisis de la varianza para dos factores (twoway ANOVA) para verificar la existencia o inexistencia de relación matemática entre los dos factores analizados (VPA y \perp -carnitina) y los efectos producidos por los distintos tratamientos.

De esta forma, comprobamos la homo o heterogeneidad de los grupos de tratamiento y, en el caso de heterogeneidad (varianza explicada, $p < 0,05$), conocemos si las diferencias entre los grupos se pueden explicar por la interacción de los dos factores ($p < 0,05$) o bien por la acción de uno de ellos. En los casos de varianza explicada significativa ($p < 0,05$) y ausencia de

interacción entre los dos factores analizados ($p > 0,05$), se ha realizado el análisis de la varianza para un sólo factor (oneway ANOVA) que nos permite comprobar de nuevo el grado de homogeneidad de los grupos de tratamiento así como el de las propias varianzas mediante los tests de Cochran y de Bartlett-Box. En los casos en los que la probabilidad de estos dos test no ha ido en contra de la homogeneidad de las varianzas, se ha realizado la comparación de los valores medios de cada grupo con los de todos los demás mediante la prueba de contraste de medias a posteriori de Scheffe aceptando niveles de significación a partir de $p < 0,05$. En los casos en los que el análisis de la varianza para dos factores ha señalado la presencia de interacción significativa entre ambos, se ha analizado los valores medios y los IC 95% para comprobar la existencia o inexistencia de significación en las diferencias.

En cada variable se ha comprobado el ajuste de la distribución de los datos a la distribución normal ($p > 0,05$) mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, con objeto de poder aplicar las pruebas paramétricas que acabamos de señalar.

En lo relativo al peso inicial y final de los diferentes grupos de ratas (debido a la escasa dispersión de los valores medios) y en lo relativo a la morfometría ultraestructural sobre las mitocondrias (debido al número diferente de mediciones en cada grupo), se ha efectuado la prueba de comparación de múltiples medias de Newman-Keuls. Esta prueba se basa en una estimación global de la varianza de la población a la que pertenecerían todas las muestras en la hipótesis de igualdad de medias y en el cálculo, a partir de ella, de la máxima diferencia

permisible entre medias en esa hipótesis, asumiendo una distribución normal.

Las variables consideradas en cada grupo de estudio (bioquímico, óptico y ultraestructural) serán especificadas a propósito de los resultados.

En todos los casos, se ha asumido un riesgo α bilateral igual a 0,05, aceptando significación estadística cuando la hipótesis planteada se podía asumir en más del 95% de las comprobaciones (riesgo máximo aceptado para rechazar la hipótesis nula menor del 5%, $P < 0,05$). De esta forma, el término 'estadísticamente significativo' se ha considerado equiparable a 'rechazo de la hipótesis nula' (es decir, indica que la variación en el muestreo constituye un explicación improbable de la discrepancia existente entre los valores de la hipótesis nula y los de la muestra).

El análisis de la varianza se ha llevado a cabo mediante el programa SPSS/PC+^R (Statistical Package for Social Sciences) V4.0 (Norusis MJ, 1990) sobre un ordenador IBM PS/2^R con microprocesador INTEL^R 386.

La prueba de Newman-Keuls se ha llevado a cabo mediante el programa Presta PC V2.2 de Procesamientos Estadísticos (Abraira V et al, Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social, 1992) sobre un ordenador personal portatil AT Toshiba T1000LE.

La bibliografía utilizada para el estudio estadístico corresponde a Milton y Tsokos (Milton JS y Tsokos JO, 1987), Colton (Colton T, 1979) y Norusis MJ (Norusis MJ, 1990).

II.E. Metodología del estudio bibliográfico y características de edición

La búsqueda y recuperación de las referencias bibliográficas relativas al ácido valproico y a la carnitina se ha efectuado a través de la base de datos bibliográfica en CD-ROM (Compact Disc-Read Only Memory) COMPREHENSIVE MEDLINE (MEDLARS, Medical Literature Analysis and Retrieval System Online) que contiene la base de datos de la National Library of Medicine (Bethesda, EEUU), con referencias bibliográficas y resúmenes (en el 70% de los casos) de trabajos publicados en aproximadamente 3400 revistas de todo el mundo y cuya versión impresa es el Index Medicus (Vila Donat E, 1992). Se rastrearon los CD-ROM hasta Diciembre de 1991, utilizando las palabras clave 'valproic acid' y 'carnitine'. Los ficheros obtenidos de esta manera fueron exportados a un programa de tratamiento de textos (Wordperfect^R V5.0, Wordperfect Corporation, 1988) donde se realizó la selección de las citas bibliográficas más adecuadas a los objetivos de este trabajo. La ordenación alfabética de la lista bibliográfica definitiva en base al apellido del primer autor de cada cita bibliográfica se efectuó mediante una base de datos para PC (dBASE III PLUS^R V1.0, Ashton-Tate, 1987) trasladándose posteriormente este fichero ordenado a un fichero Wordperfect para su impresión.

Para la edición de este trabajo se han tenido en cuenta las recomendaciones del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (International Commitee of Medical Journals Editors, 1991).

Los gráficos que se incluyen han sido realizados mediante

los propios programas estadísticos (Kontron V5.42, SPSS/PC V4.0) y mediante el programa Harvard Graphics V2.10 soportado en un PC AT convencional.

La impresión de los gráficos y del resto de este trabajo se ha llevado a cabo en una impresora Hewlett-Packard^R LaserJet IIP plus.

RESULTADOS

I. Desarrollo de la fase experimental

Todos los animales sobrevivieron a la fase experimental. En ninguno de ellos se observaron signos de disfunción orgánica, estupor, coma, debilidad muscular, hipotonía o dificultades para el movimiento, ni tampoco otro tipo de alteraciones dignas de mención.

II. Peso corporal

II.A. Inicio de la fase experimental

Al iniciarse la fase experimental, la descripción de los pesos fué la siguiente:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%
Grp 1	5	170,0	7,07	3,16	162,10 a 177,90
Grp 2	5	170,0	7,07	3,16	162,10 a 177,90
Grp 3	5	172,0	4,47	2,00	167,00 a 177,00
Grp 4	5	176,0	8,94	4,00	166,00 a 186,00
Grp 5	5	178,0	8,37	3,74	168,65 a 187,35
Grp 6	5	174,0	5,48	2,45	167,87 a 180,12
Total	30	171,7	6,38	2,60	165,17 a 178,17

No existieron diferencias significativas para un nivel de 0,05 entre los pesos medios de los grupos de tratamiento al inicio de la fase experimental (Newman-Keuls, 24 grados de libertad).

II.B. Final de la fase experimental

A los 90 días de tratamiento, y poco antes de ser sacrificadas, los pesos de las ratas fueron los siguientes:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%
Grp 1	5	254,0	8,94	4,00	244,00 a 264,00
Grp 2	5	264,0	15,17	6,78	247,05 a 280,95
Grp 3	5	268,0	13,04	5,83	253,42 a 282,57
Grp 4	5	258,0	13,04	5,83	243,42 a 272,57
Grp 5	5	274,0	11,40	5,10	261,25 a 286,75
Grp 6	5	278,0	19,24	8,60	256,50 a 299,50
Total	30	266,0	9,21	3,76	256,60 a 275,40

En este caso, tampoco se observaron diferencias significativas para un nivel de 0,05 entre los pesos medios de los grupos de tratamiento al final de la fase experimental (Newman-Keuls, 24 grados de libertad).

Las comparacion conjunta de los pesos medios iniciales y finales de todos los grupos demuestra que, para cada grupo de tratamiento, existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre el peso medio al inicio de la fase y el peso medio al final de la misma (Newman-Keuls, 48 grados de libertad).

III. Resultados bioquímicos

El estudio bioquímico se llevó a cabo sobre muestras de plasma, hígado y músculo esquelético obtenidas inmediatamente tras la muerte de los animales, y en cada

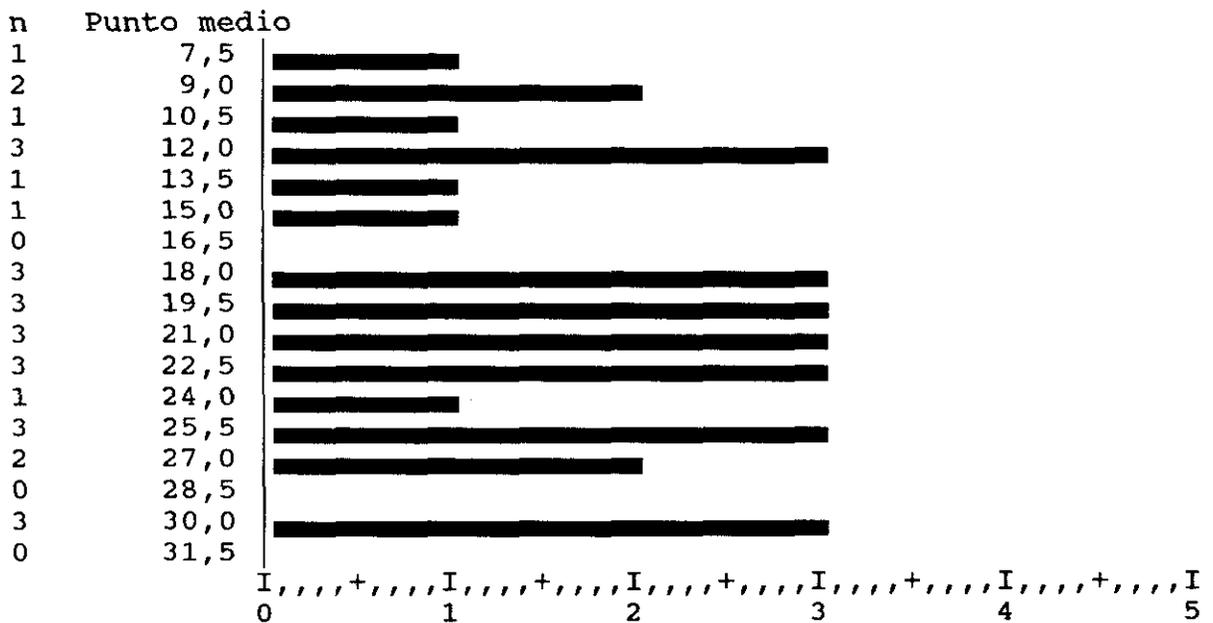
uno de estos tres compartimentos se determinaron tres parámetros directos (concentraciones de CL, SCAC y LCAC) y dos parámetros derivados (CTOT y AC/CL).

III.A. Plasma

A continuación se incluyen los resultados descriptivos e inferenciales relativos a las concentraciones plasmáticas de CL, SCAC, LCAC y CTOT, así como los correspondientes al índice AC/CL.

III.A.1. Concentración de CL en plasma

El histograma de frecuencias de las concentraciones de CL en el plasma de los animales de todos los grupos de tratamiento fué el siguiente:



Las concentraciones medias de CL en plasma se transcriben a continuación:

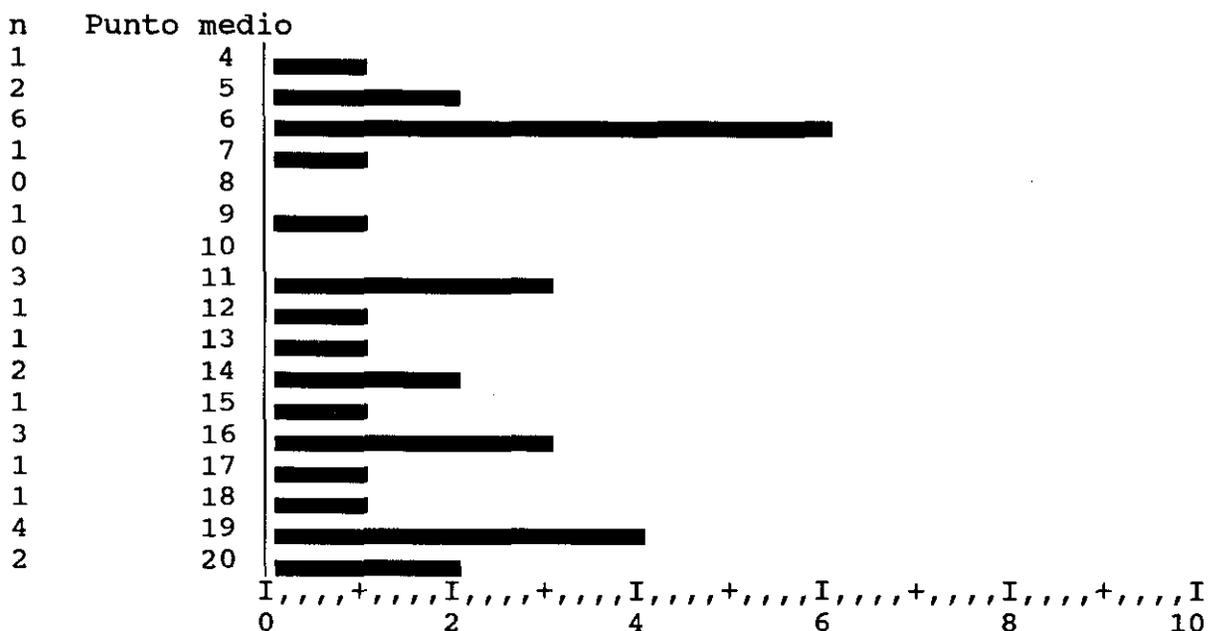
Grp	n	Media	DE	EEM	IC 95%
Grp 1	5	23,6000	4,0447	1,8089	18,5779 a 28,6221
Grp 2	5	14,3800	2,6119	1,1681	11,1370 a 17,6230
Grp 3	5	9,9000	1,6733	0,7483	7,8223 a 11,9777
Grp 4	5	23,1200	4,1973	1,8771	17,9085 a 28,3315
Grp 5	5	20,9800	3,3589	1,5021	16,8095 a 25,1505
Grp 6	5	26,4400	3,4990	1,5648	22,0955 a 30,7845
Total	30	19,7367	6,5916	1,2035	17,2753 a 22,1980

El análisis de la varianza de la variable dependiente CL en plasma con respecto a las variables independientes VPA y carnitina indica que existe una fuerte interacción entre estas últimas ($p=0,031$) por lo que no es posible valorar la influencia de cada una de ellas en el resultado.

A pesar de ello, la observación de la tabla de estadística descriptiva indica que el VPA disminuye significativamente el nivel plasmático de CL de forma dependiente de la dosis, efecto que es revertido por la carnitina exógena.

III.A.2. Concentración de SCAC en plasma

La distribución de las frecuencias de las concentraciones plasmáticas de SCAC queda reflejada mediante su histograma:



Las concentraciones plasmáticas medias de SCAC en los distintos grupos de tratamiento fueron las siguientes:

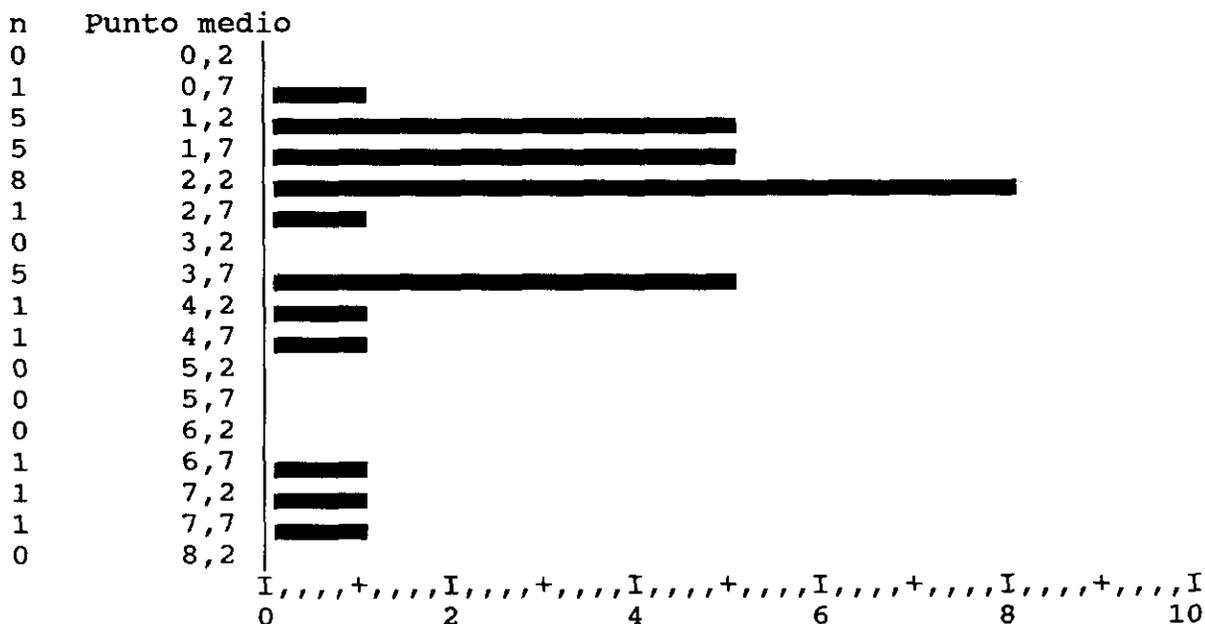
Grp	n	Media	DE	EEM	IC 95%
Grp 1	5	5,7000	0,6782	0,3033	4,8579 a 6,5421
Grp 2	5	11,6400	2,5832	1,1552	8,4326 a 14,8474
Grp 3	5	14,5800	3,2206	1,4403	10,5812 a 18,5788
Grp 4	5	16,5000	2,4474	1,0945	13,4611 a 19,5389
Grp 5	5	18,6600	1,5323	0,6853	16,7574 a 20,5626
Grp 6	5	5,7000	0,9274	0,4147	4,5485 a 6,8515
Total	30	12,1300	5,4462	0,9943	10,0964 a 14,1636

Al igual que en el caso anterior, el análisis de la varianza de la variable dependiente SCAC en plasma con respecto a las variables independientes VPA y carnitina indica que existe una fuerte interacción ($p=0,036$) entre estas últimas, lo que imposibilita conocer la influencia de cada una de ellas en el resultado.

Los valores medios en los diferentes grupos de tratamiento señalan que el VPA aumenta significativamente la concentración de SCAC en plasma de forma dependiente de la dosis, y que la administración de carnitina exógena potencia este efecto.

III.A.3. Concentración de LCAC en plasma

El histograma que se incluye a continuación indica la distribución de frecuencias de las concentraciones de LCAC en el plasma.



La tabla de estadística descriptiva correspondiente a las concentraciones plasmáticas medias de LCAC es la siguiente:

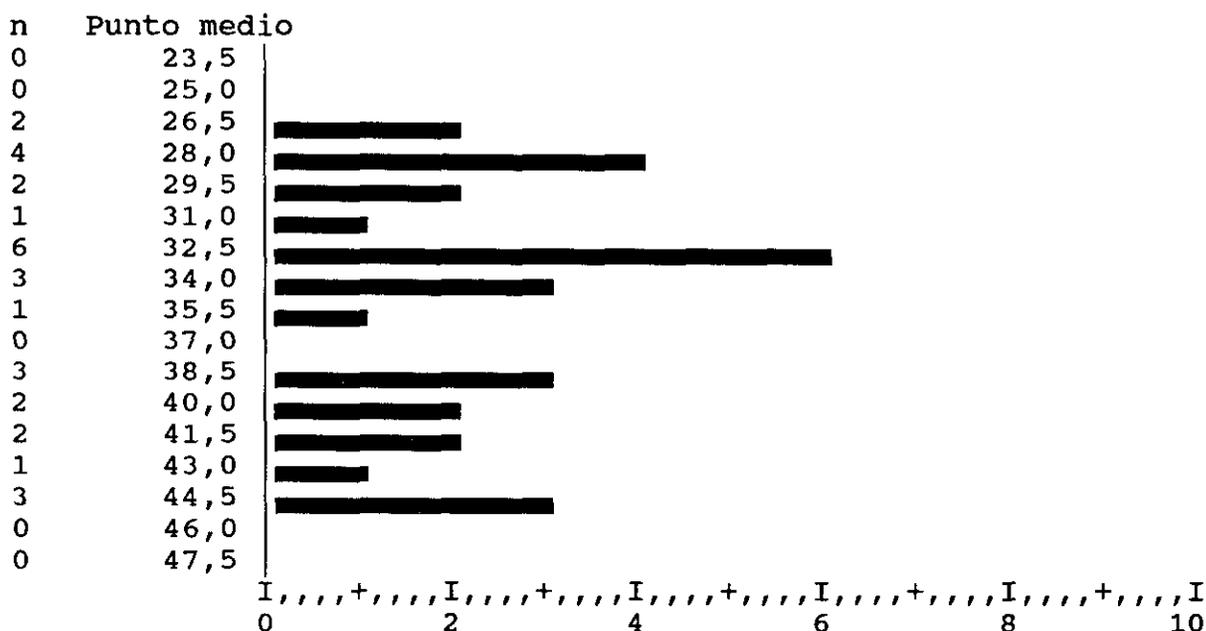
	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	1,7520	0,6015	0,2690	1,0052	a 2,4988
Grp 2	5	3,9800	0,3564	0,1594	3,5375	a 4,4225
Grp 3	5	5,8600	1,8636	0,8334	3,5461	a 8,1739
Grp 4	5	1,5160	0,6777	0,3031	0,6745	a 2,3575
Grp 5	5	1,9100	0,4930	0,2205	1,2979	a 2,5221
Grp 6	5	1,9000	0,3162	0,1414	1,5074	a 2,2926
Total	30	2,8197	1,8058	0,3297	2,1454	a 3,4940

En el análisis de la varianza de la variable dependiente LCAC en plasma respecto a las variables independientes VPA y carnitina se observa que la interacción entre estas últimas es muy intensa ($p=0,001$).

La observación de la tabla descriptiva señala que el VPA aumenta significativamente, y con carácter dependiente de la dosis, el nivel de LCAC en plasma, y que la carnitina revierte este efecto.

III.A.4. Concentración de CTOT en plasma

La distribución de las frecuencias de las concentraciones de CTOT en plasma refleja la tendencia observada en las distribuciones de frecuencias relativas a las concentraciones de CL, SCAC y LCAC, al ser la CTOT un parámetro derivado de las mismas. Su histograma es el siguiente:



Los valores medios observados en cada grupo se transcriben a continuación:

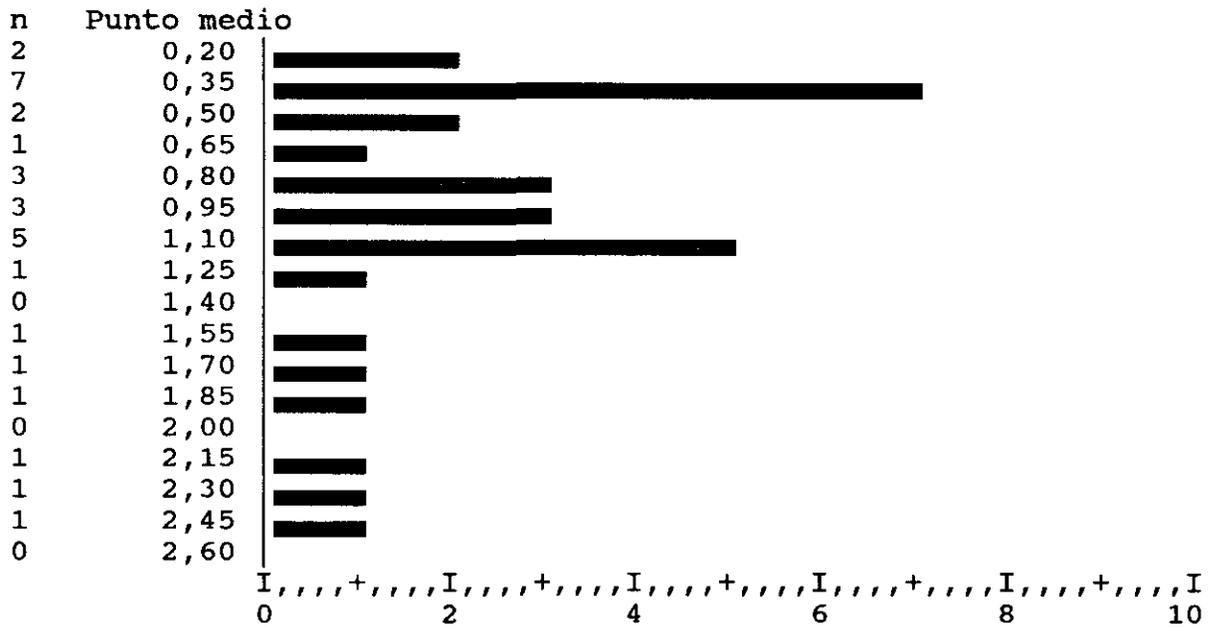
	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	31,0520	3,8297	1,7127	26,2969	a 35,8071
Grp 2	5	30,0000	3,0174	1,3494	26,2534	a 33,7466
Grp 3	5	30,3400	2,7245	1,2184	26,9571	a 33,7229
Grp 4	5	41,1360	4,0412	1,8073	36,1182	a 46,1538
Grp 5	5	41,5500	2,0000	0,8944	39,0667	a 44,0333
Grp 6	5	34,0400	3,7885	1,6943	29,3360	a 38,7440
Total	30	34,6863	5,8115	1,0610	32,5163	a 36,8564

Al igual que en lo relativo al análisis de las varianzas de los parámetros directos de los que se deriva, en el caso de la CTOT la interacción entre las variables independientes VPA y carnitina es lo suficientemente fuerte (p=0,014) como para que no se pueda valorar la influencia de cada una de ellas en el resultado.

En la estadística descriptiva se puede observar que el VPA no modifica significativamente la concentración de CTOT en plasma.

III.A.5. Cociente AC/CL en plasma

El histograma corresponde a la distribución de frecuencias del índice AC/CL en los animales incluidos en el estudio.



Los valores medios obtenidos en cada grupo de tratamiento quedan reflejados en la tabla siguiente:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	0,3254	0,0717	0,0321	0,2364	a 0,4144
Grp 2	5	1,1202	0,2938	0,1314	0,7554	a 1,4850
Grp 3	5	2,1016	0,3189	0,1426	1,7056	a 2,4976
Grp 4	5	0,8030	0,2027	0,0907	0,5513	a 1,0547
Grp 5	5	1,0064	0,2038	0,0911	0,7534	a 1,2594
Grp 6	5	0,2904	0,0355	0,0159	0,2463	a 0,3345
Total	30	0,9412	0,6468	0,1181	0,6997	a 1,1827

El análisis de las varianzas de la variable dependiente AC/CL respecto a las variables independientes VPA y carnitina indica la existencia de una muy fuerte interacción entre estas últimas ($p=0,001$).

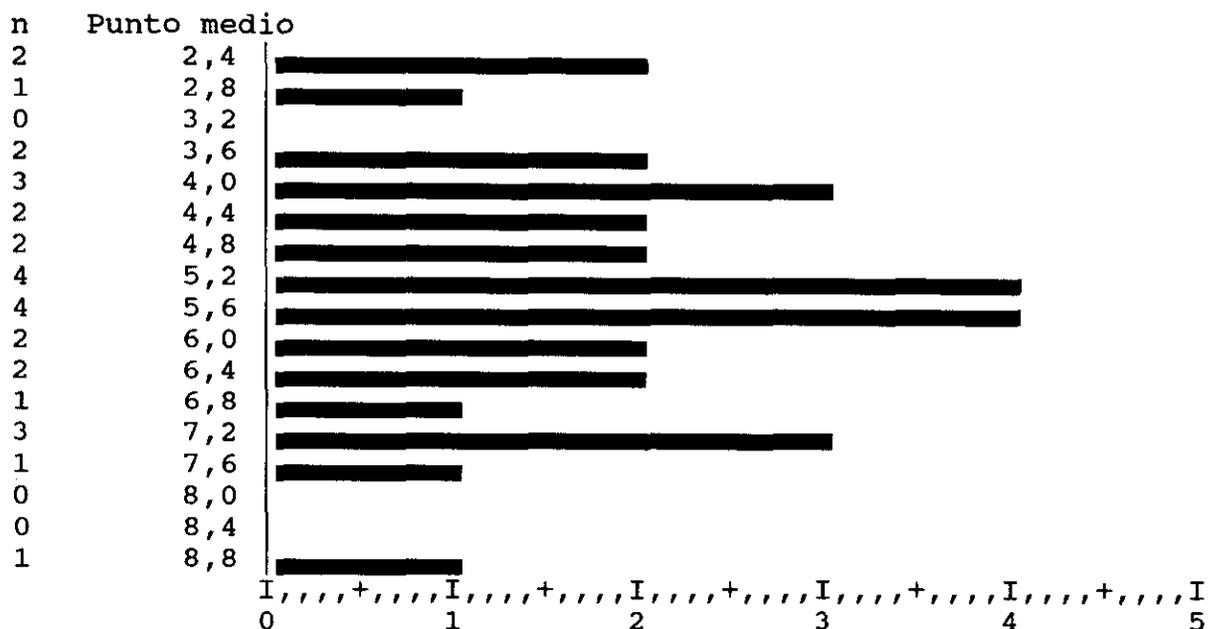
La consideración de los valores medios e IC 95% nos indica que el VPA incrementa significativamente el cociente AC/CL plasmático, que este efecto depende de la dosis, y que la carnitina exógena revierte el mismo.

III.B. Hígado

Al igual que en el plasma, en el hígado de todos los animales incluidos en el estudio se determinaron las concentraciones de CL, SCAC, LCAC y CTOT, así como el cociente AC/CL.

III.B.1. Concentración de CL en hígado

Las concentraciones hepáticas de Cl presentaron la siguiente distribución de frecuencias:



La descripción de las concentraciones medias observadas en cada grupo de tratamiento es la siguiente:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	6,2200	1,0710	0,4790	4,8902	a 7,5498
Grp 2	5	4,6000	0,7649	0,3421	3,650	a 5,5497
Grp 3	5	3,1200	0,7727	0,3455	2,1606	a 4,0794
Grp 4	5	6,4600	1,5900	0,7111	4,4858	a 8,4342
Grp 5	5	5,1000	0,7141	0,3194	4,2133	a 5,9867
Grp 6	5	6,3400	0,9423	0,4214	5,1700	a 7,5100
Total	30	5,3067	1,5290	0,2792	4,7357	a 5,8776

A diferencia de lo observado en los parámetros plasmáticos, el análisis de las varianzas de la variable dependiente CL en hígado indica ausencia de interacción entre las variables independientes VPA y carnitina ($p=0,095$), y una fuerte influencia de cada una de ellas sobre el resultado (VPA, $p=0,001$; carnitina, $p=0,002$).

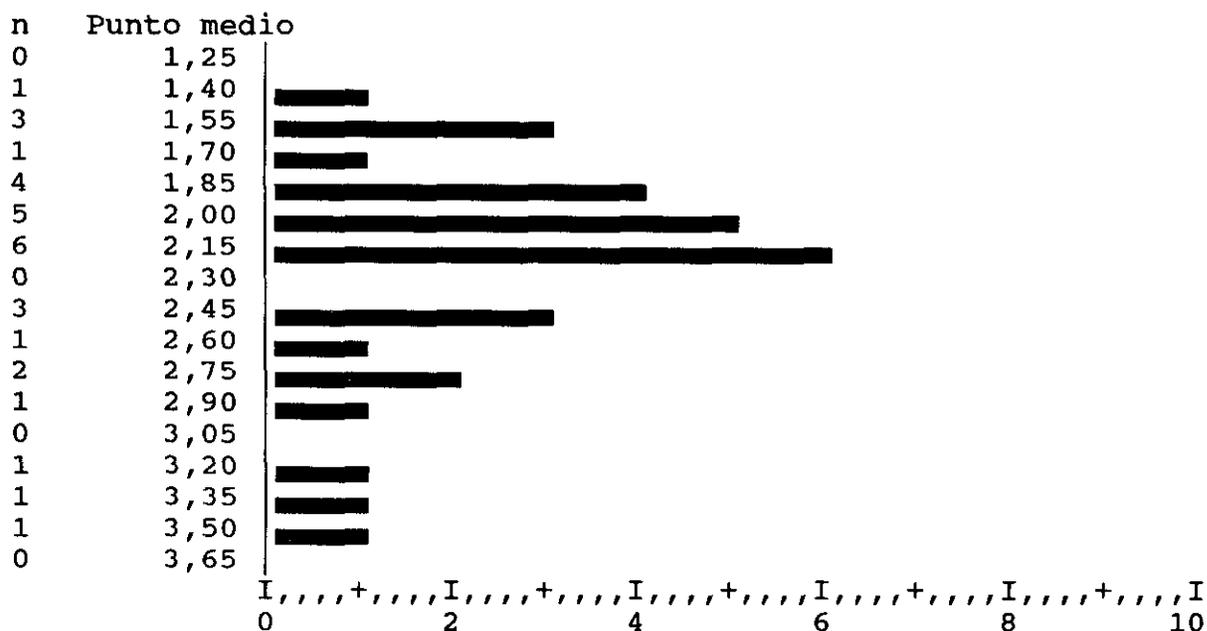
La prueba de contraste de medias de Scheffe aplicada a las concentraciones hepáticas de CL señala el siguiente resultado (los asteriscos indican significación estadística en la diferencia):

			G G G G G G
			r r r r r r
			p p p p p p
Media	Grupo		3 2 5 1 6 4
3,1200	Grp 3		
4,6000	Grp 2		
5,1000	Grp 5		
6,2200	Grp 1	*	
6,3400	Grp 6	*	
6,4600	Grp 4	*	

Este resultado indica que el VPA disminuye de forma significativa la concentración de CL en tejido hepático, efecto que depende de la dosis de VPA administrada. La carnitina exógena normaliza el nivel de CL alterado por el VPA.

III.B.2. Concentración de SCAC en hígado

Con respecto a los ésteres de cadena corta de carnitina, la distribución de las frecuencias queda reflejada en su histograma:



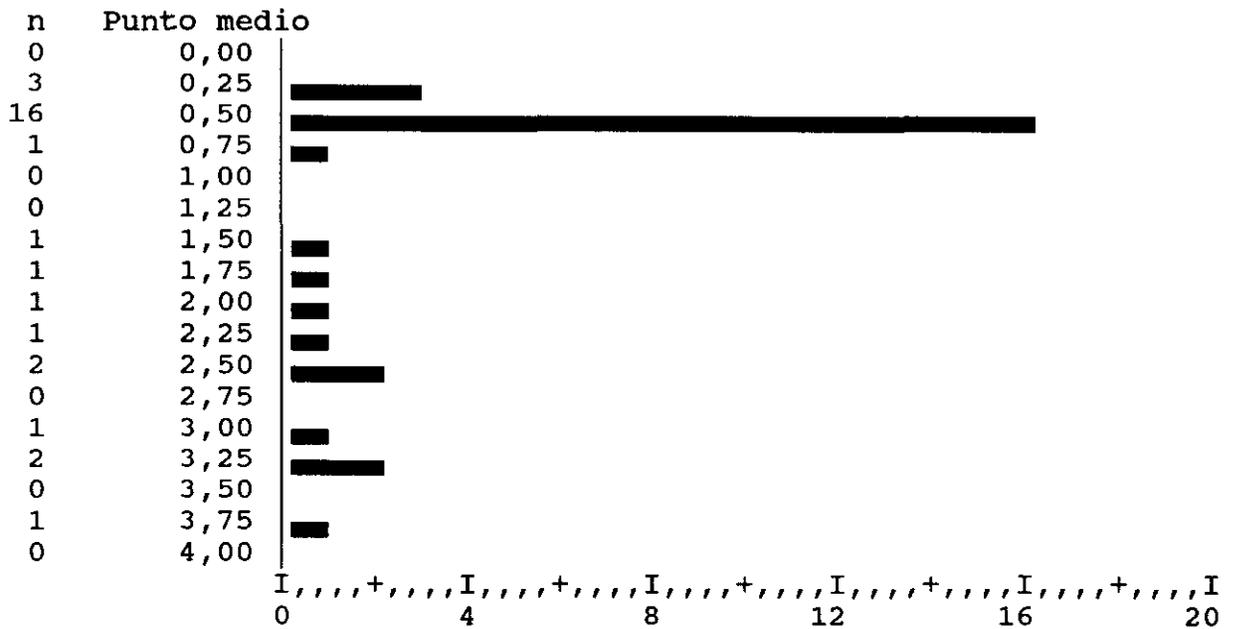
La tabla que se incluye a continuación refleja las concentraciones hepáticas medias de SCAC en los grupos de tratamiento:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	2,4400	0,6841	0,3059	1,5906	a 3,2894
Grp 2	5	2,1800	0,3493	0,1562	1,7463	a 2,6137
Grp 3	5	2,0200	0,4025	0,1800	1,5202	a 2,5198
Grp 4	5	2,3800	0,6419	0,2871	1,5830	a 3,1770
Grp 5	5	1,9400	0,1949	0,0872	1,6980	a 2,1820
Grp 6	5	2,4200	0,7950	0,3555	1,4329	a 3,4071
Total	30	2,2300	0,5415	0,0989	2,0278	a 2,4322

El análisis de la varianza en este caso indica que los grupos no pertenecen a poblaciones diferentes (varianza explicada, $p=0,585$), es decir, que no existen diferencias significativas entre sus valores medios.

III.B.3. Concentración de LCAC en hígado

El histograma de frecuencias de las concentraciones de LCAC en hígado es el siguiente:



Las concentraciones medias de LCAC hepáticos en cada grupo fueron las siguientes:

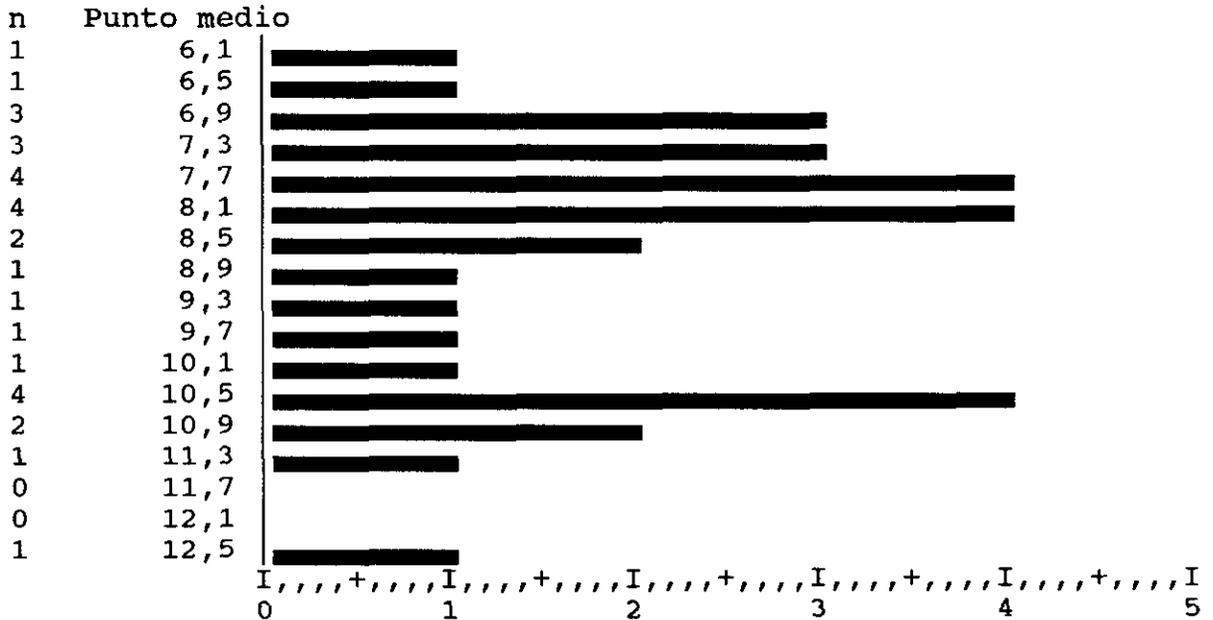
	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	0,4520	0,1612	0,0721	0,2519	a 0,6521
Grp 2	5	2,3200	0,6760	0,3023	1,480	a 3,1594
Grp 3	5	2,8400	0,7403	0,3311	1,9208	a 3,7592
Grp 4	5	0,4600	0,1782	0,0797	0,2388	a 0,6812
Grp 5	5	0,4800	0,0997	0,0446	0,3561	a 0,6039
Grp 6	5	0,5140	0,0699	0,0312	0,4273	a 0,6007
Total	30	1,1777	1,0906	0,1991	0,7704	a 1,5849

En el análisis de la varianza se puede observar que las variables consideradas independientes, VPA y carnitina, muestran un coeficiente de interacción muy elevado ($p=0,001$), por lo que no podemos conocer la influencia de cada una de ellas por separado en el resultado de las concentraciones hepáticas de LCAC.

La observación de los datos descriptivos nos indica claramente que el VPA disminuye de forma significativa la concentración de ésteres de cadena larga de carnitina (LCAC) de una forma independiente de la dosis. La carnitina exógena revierte este efecto del VPA.

III.B.4. Concentración de CTOT en hígado

Con respecto a las concentraciones hepáticas de CTOT, la distribución de las mismas se refleja en el histograma:



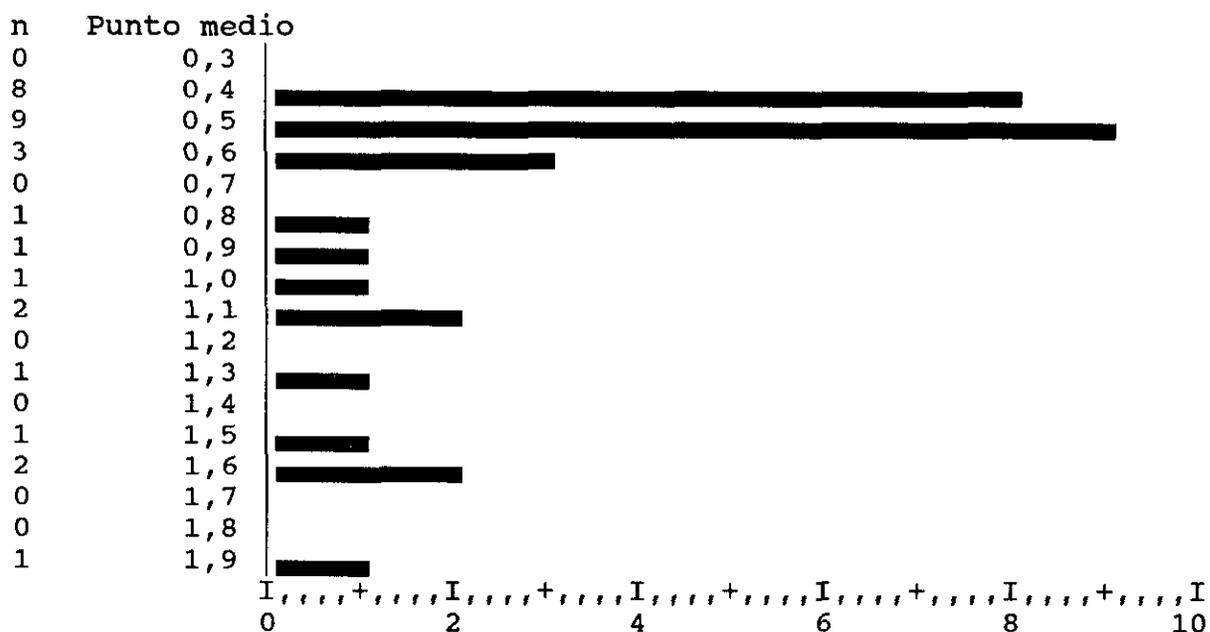
La tabla descriptiva de los valores medios de estas concentraciones en cada grupo de tratamiento se incluye a continuación:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	9,1120	1,5941	0,7129	7,1327	a 11,0913
Grp 2	5	9,1000	1,6628	0,7436	7,0354	a 11,1646
Grp 3	5	7,9800	1,6438	0,7351	5,9390	a 10,0210
Grp 4	5	9,3000	2,2201	0,9928	6,5435	a 12,0565
Grp 5	5	7,5200	0,7293	0,3262	6,6144	a 8,4256
Grp 6	5	9,2740	1,6001	0,7156	7,2873	a 11,2607
Total	30	8,7143	1,6480	0,3009	8,0990	a 9,3297

El análisis de la varianza indica que las concentraciones medias de CTOT en los grupos de tratamiento no pertenecen a poblaciones distintas (varianza explicada, $p=0,388$), por lo que no presentan diferencias significativas entre sí.

III.B.5. Concentración de AC/CL en hígado

El histograma de frecuencias correspondiente a la distribución de los cocientes AC/CL hepáticos de los animales estudiados es el siguiente:



La tabla que se incluye a continuación corresponde a la descripción de los valores medios de los cocientes AC/CL hepáticos en cada grupo de tratamiento:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	0,4658	0,0689	0,0308	0,3803	a 0,5513
Grp 2	5	0,9768	0,1159	0,0519	0,8328	a 1,1208
Grp 3	5	1,5848	0,2362	0,1056	1,2915	a 1,8781
Grp 4	5	0,4420	0,0430	0,0192	0,3886	a 0,4954
Grp 5	5	0,4822	0,0736	0,0329	0,3909	a 0,5735
Grp 6	5	0,4594	0,0847	0,0379	0,3542	a 0,5646
Total	30	0,7352	0,4452	0,0813	0,5689	a 0,9014

El análisis de las varianzas de la variable dependiente AC/CL en hígado respecto a las variables independientes VPA y carnitina indica que existe una muy importante interacción entre estas últimas ($p=0,001$).

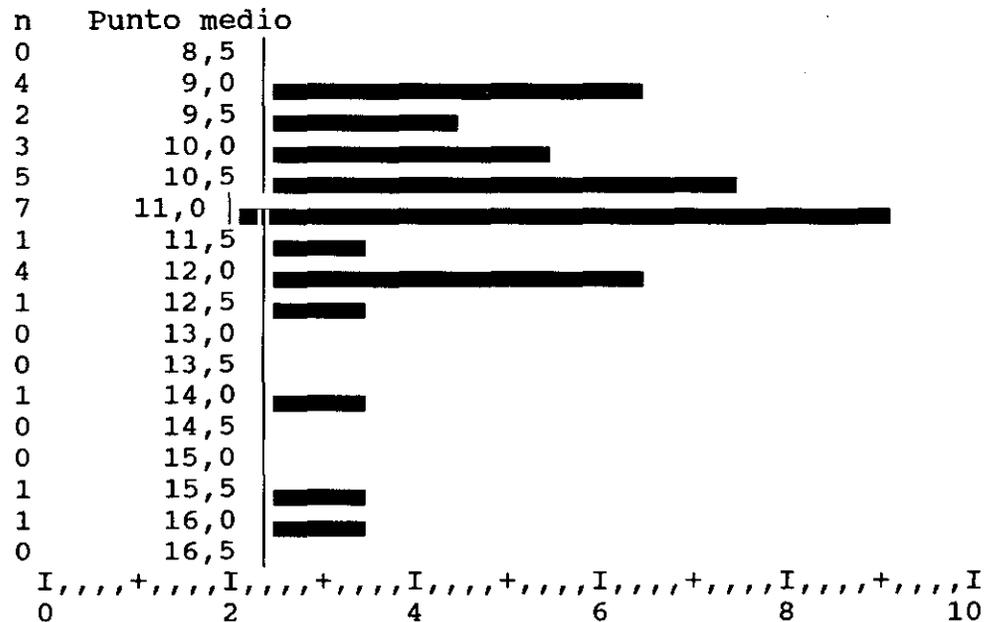
En la tabla descriptiva se puede observar que el VPA aumenta significativamente, y con carácter dependiente de la dosis, el cociente AC/CL en tejido hepático, mientras que la administración de carnitina exógena revierte este efecto.

III.C. Músculo sóleo

La tercera parte del estudio bioquímico se llevó a cabo sobre músculo esquelético, concretamente sobre músculo sóleo, en el que de nuevo se determinaron las concentraciones de CL, SCAC, LCAC y CTOT, así como los índices AC/CL, en todos los animales incluidos en el estudio.

III.C.1. Concentración de CL en músculo sóleo

La distribución de frecuencias de las concentraciones de CL observadas en el músculo sóleo queda reflejada en el histograma siguiente:



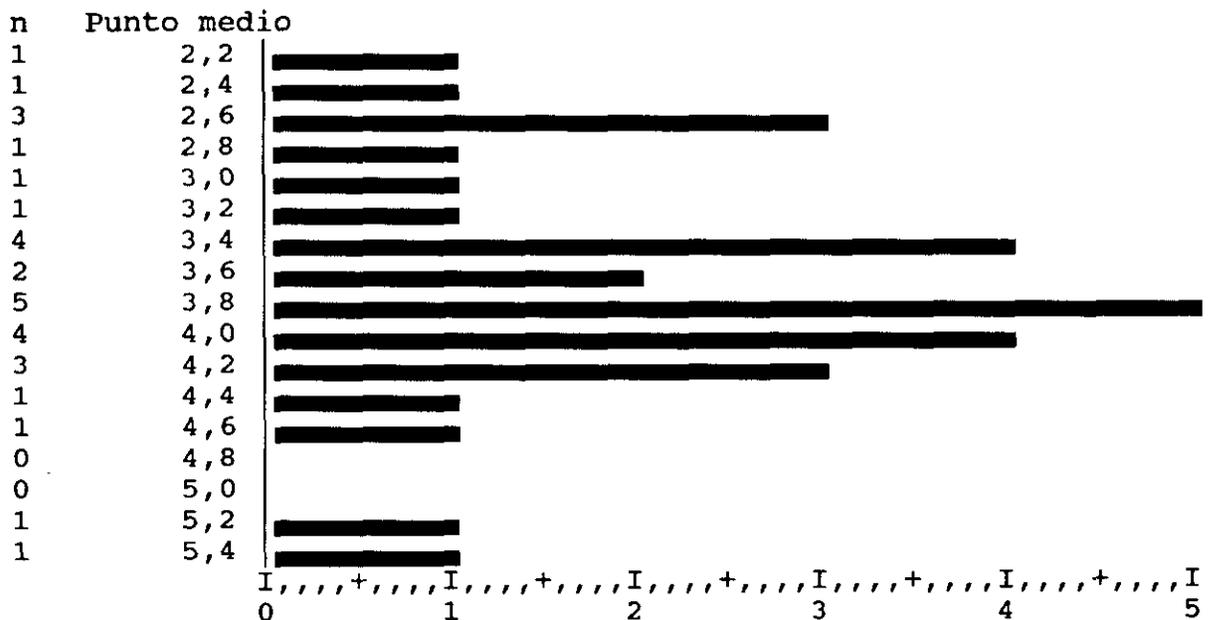
Las características descriptivas de las concentraciones musculares de CL se incluyen en la tabla:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	11,5000	1,8987	0,8491	9,142	a 13,8575
Grp 2	5	10,0800	0,8585	0,3839	9,0141	a 11,1459
Grp 3	5	10,2200	1,2696	0,5678	8,643	a 11,7964
Grp 4	5	11,0400	0,8961	0,4007	9,9274	a 12,1526
Grp 5	5	10,8800	0,5933	0,2653	10,1433	a 11,6167
Grp 6	5	12,8200	2,9141	1,3032	9,2017	a 16,4383
Total	30	11,0900	1,7353	0,3168	10,4420	a 11,7380

El análisis de la varianza indica que estas concentraciones medias no pertenecen a poblaciones distintas (varianza explicada, $p=0,129$), por lo que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las mismas.

III.C.2. Concentración de SCAC en músculo sóleo

Las frecuencias de las concentraciones de SCAC en músculo sóleo se distribuyeron de la siguiente forma:



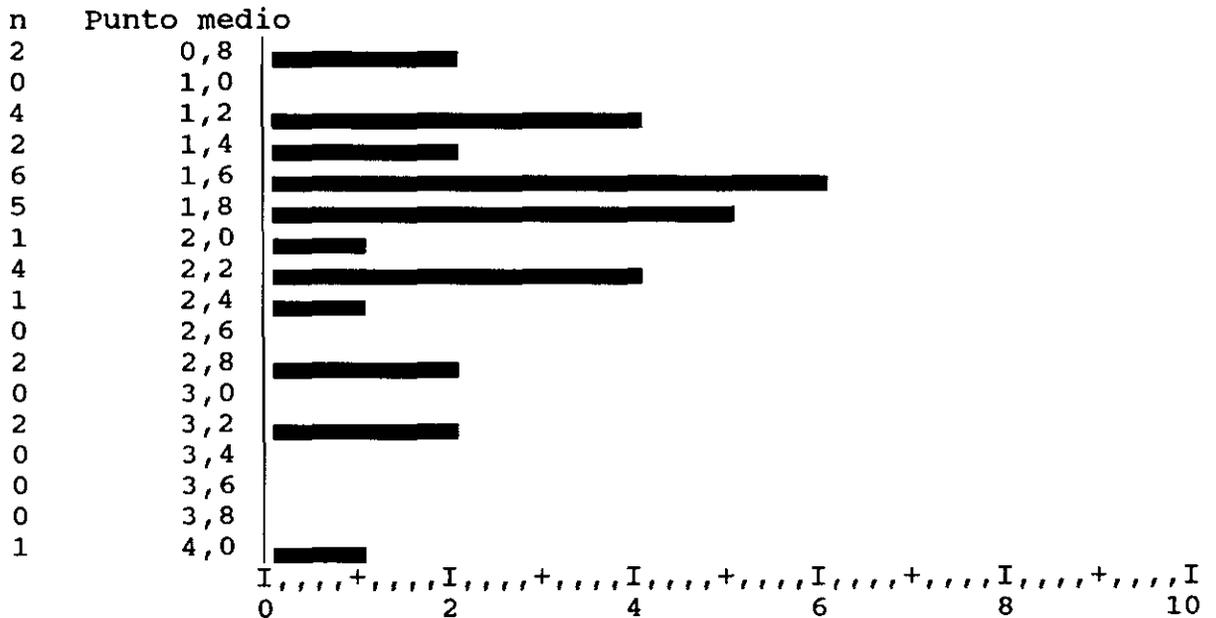
Los resultados medios en cada grupo de tratamiento se reflejan en la tabla:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%
Grp 1	5	3,3000	0,7176	0,3209	2,4090 a 4,1910
Grp 2	5	3,5800	0,8258	0,3693	2,5546 a 4,6054
Grp 3	5	4,3200	0,6535	0,2922	3,5086 a 5,1314
Grp 4	5	3,4800	0,5167	0,2311	2,8384 a 4,1216
Grp 5	5	4,1400	0,8234	0,3682	3,1176 a 5,1624
Grp 6	5	3,2600	0,7403	0,3311	2,3408 a 4,1792
Total	30	3,6800	0,7752	0,1415	3,3905 a 3,9695

El análisis de la varianza indica que los las concentraciones medias de SCAC en el músculo sóleo de los grupos de tratamiento no pertenecen a clases distintas (varianza explicada, $p=0,130$), por lo que no existen diferencias significativas entre las mismas.

III.C.3. Concentración de LCAC en músculo sóleo

Con respecto a los LCAC en músculo sóleo, el histograma de frecuencias correspondiente a sus concentraciones en los animales estudiados es el siguiente:



Las concentraciones medias en cada grupo de tratamiento fueron las siguientes:

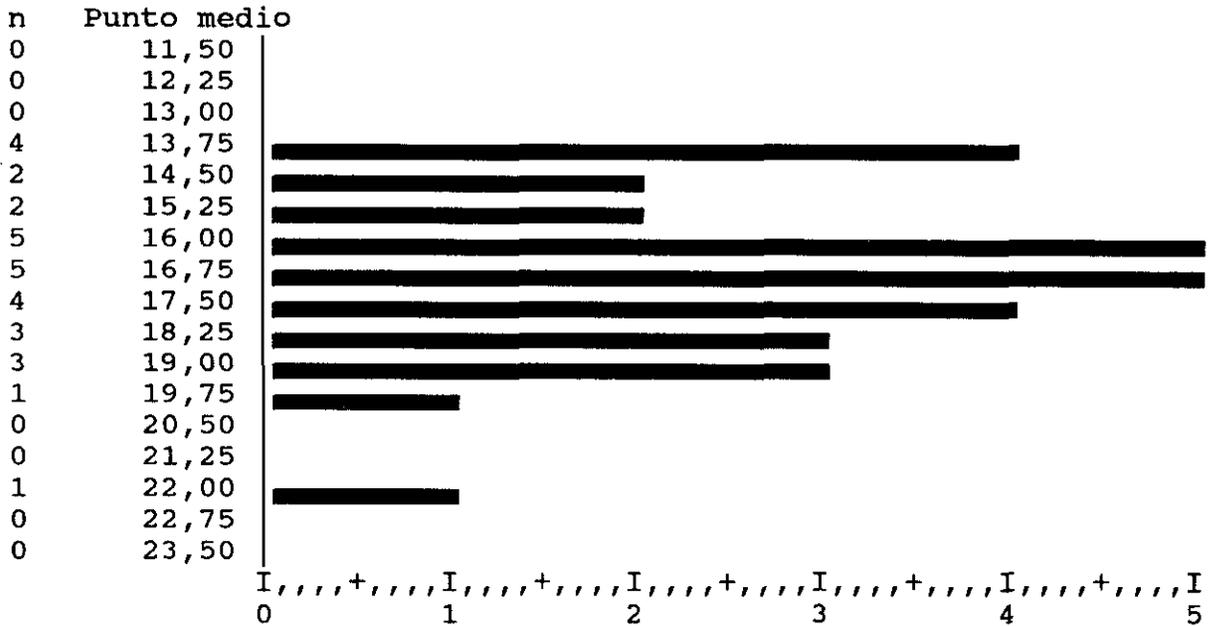
	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	1,2800	0,3834	0,1715	0,8039	a 1,7561
Grp 2	5	2,3020	0,5756	0,2574	1,5874	a 3,0166
Grp 3	5	3,0260	0,6261	0,2800	2,2486	a 3,8034
Grp 4	5	1,7080	0,1385	0,0619	1,5361	a 1,8799
Grp 5	5	1,7600	0,3286	0,1470	1,3520	a 2,1680
Grp 6	5	1,3800	0,4438	0,1985	0,8289	a 1,9311
Total	30	1,9093	0,7306	0,1334	1,6365	a 2,1820

En el análisis de la varianza de la variable dependiente LCAC en músculo sóleo con respecto a las variables independientes VPA y carnitina indica que existe una fuerte interacción entre estas últimas ($p=0,008$) de manera que no es posible conocer el efecto de cada una de ellas sobre el resultado.

La tabla de estadística descriptiva muestra que el VPA incrementa de forma significativa, y dependiente de la dosis, la concentración de LCAC en músculo esquelético. La administración de carnitina exógena revierte este efecto del VPA.

III.C.4. Concentración de CTOT en músculo sóleo

Las concentraciones de carnitina total en el músculo sóleo presentaron la siguiente distribución de frecuencias:



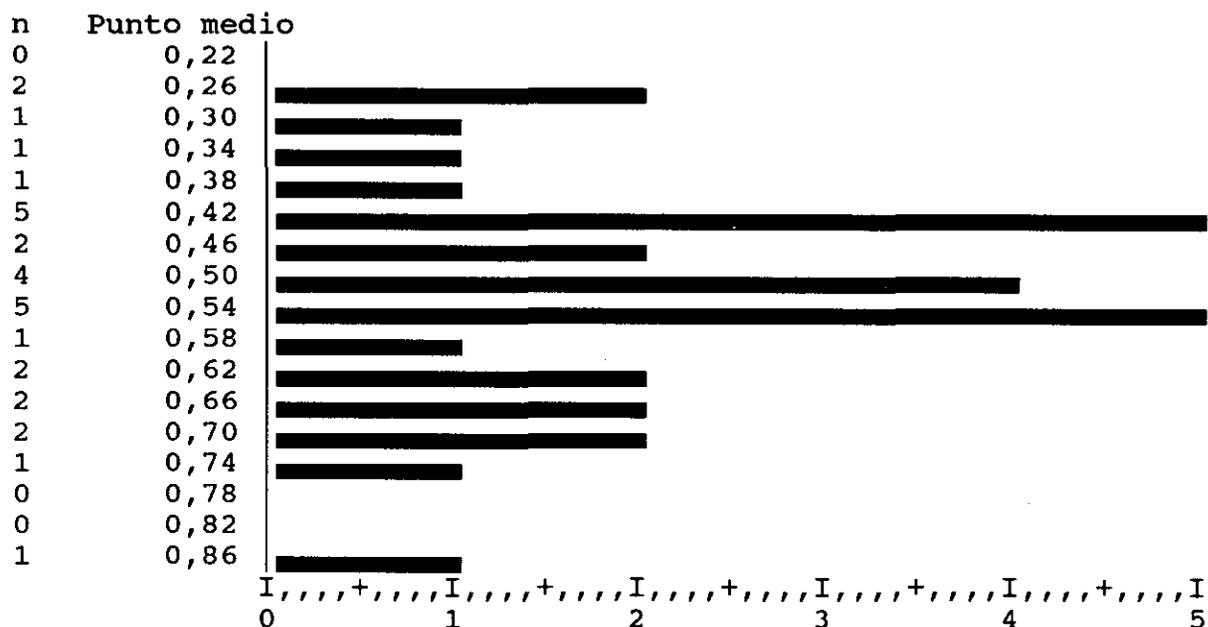
En relación con los grupos de tratamiento, los niveles musculares medios de CTOT fueron los siguientes:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%
Grp 1	5	16,0800	2,0897	0,9346	13,4853 a 18,6747
Grp 2	5	15,9620	1,6628	0,7436	13,897 a 18,0266
Grp 3	5	17,5660	1,7381	0,7773	15,407 a 19,7241
Grp 4	5	16,2280	1,1503	0,5144	14,7997 a 17,6563
Grp 5	5	16,7800	1,2931	0,5783	15,1745 a 18,3855
Grp 6	5	17,4600	3,4428	1,5397	13,1852 a 21,7348
Total	30	16,6793	1,9689	0,3595	15,9441 a 17,4145

El análisis de la varianza indica que estas concentraciones medias no pertenecen a poblaciones distintas (varianza explicada, $p=0,703$), lo que indica ausencia de significación estadística en las diferencias entre las mismas.

III.C.5. Cociente AC/CL en músculo sóleo

En lo relativo a los cocientes AC/CL en el músculo sóleo, la distribución de frecuencias queda reflejada en el siguiente histograma:



A continuación, se incluye la descripción de los cocientes musculares AC/CL medios en cada grupo de tratamiento:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	0,4058	0,0906	0,0405	0,2933	a 0,5183
Grp 2	5	0,5832	0,0894	0,0400	0,4722	a 0,6942
Grp 3	5	0,7246	0,0803	0,0359	0,6249	a 0,8243
Grp 4	5	0,4712	0,0445	0,0199	0,4159	a 0,5265
Grp 5	5	0,5414	0,0494	0,0221	0,4801	a 0,6027
Grp 6	5	0,3718	0,1031	0,0461	0,2438	a 0,4998
Total	30	0,5163	0,1401	0,0256	0,4640	a 0,5686

El análisis de la varianza de la variable dependiente AC/CL en músculo sóleo con respecto a las variables independientes VPA y carnitina indica que no existe interacción entre éstas, y que ambos fármacos tienen una gran influencia sobre el resultado (VPA, $p=0,001$; carnitina, $p=0,001$).

La prueba de contraste de medias de Scheffe da el siguiente resultado (los asteriscos indican significación estadística en la diferencia):

Media	Grupo	G G G G G G r r r r r r p p p p p p
		6 1 4 5 2 3
0,3718	Grp 6	
0,4058	Grp 1	
0,4712	Grp 4	
0,5414	Grp 5	
0,5832	Grp 2	*
0,7246	Grp 3	* * * *

Este resultado indica que el VPA incrementa significativamente el cociente AC/CL en músculo sóleo con carácter dependiente de la dosis, y que la carnitina exógena normaliza este cociente alterado por el VPA.

IV. Resultados del estudio óptico

IV.A. Músculo esquelético

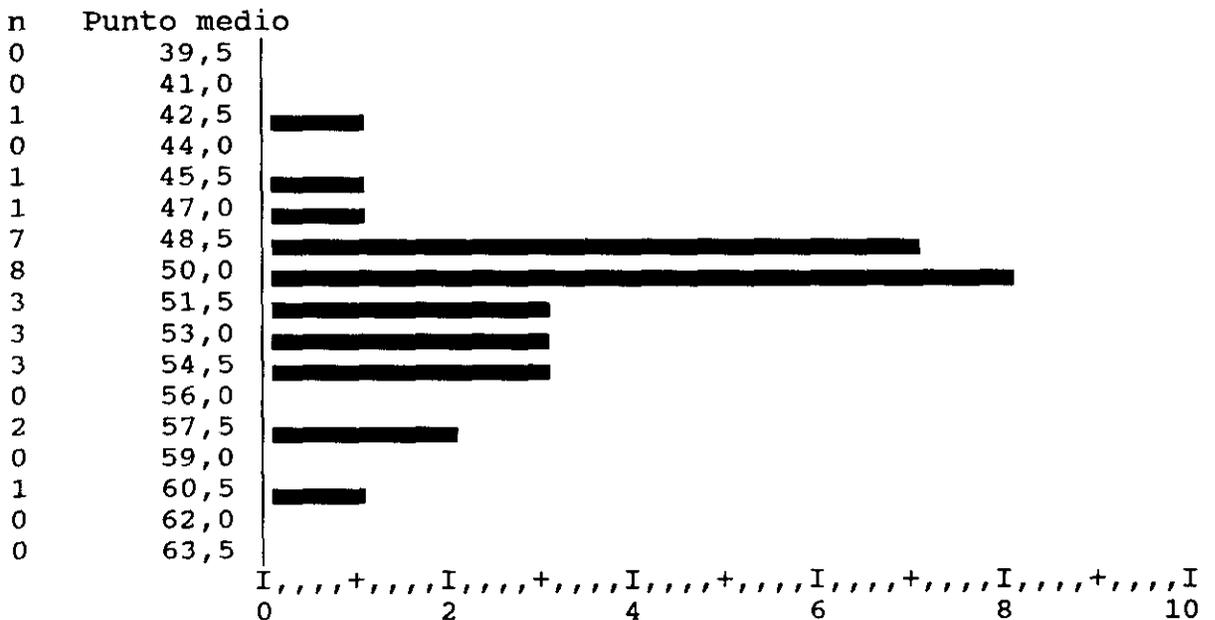
En el examen morfológico convencional del músculo esquelético efectuado en nuestro estudio no se han

demostrado alteraciones relevantes en el músculo sóleo ni en el músculo ELD de ninguna de las 30 ratas distribuidas en los 6 grupos de tratamiento. En concreto, no se ha detectado depósito de material lipídico, atrofia de fibras, agrupamiento de tipos, imágenes de inversión de tipo, presencia de células inflamatorias, necrosis, regeneración ni incremento del tejido conectivo endomisial.

Desde el punto de vista morfométrico, dado el elevado número de mediciones de diámetro efectuadas para cada tipo de fibra, el estudio estadístico descriptivo e inferencial se realizó sobre los valores medios de las mediciones efectuadas para cada tipo de fibra en cada músculo de cada animal.

IV.A.1. Diámetro de las fibras tipo I en músculo sóleo

En el músculo sóleo, la distribución de frecuencias de los diámetros medios en las ratas incluidas en el estudio fué la siguiente:



A continuación, la tabla descriptiva de los diámetros medios de las fibras tipo I en el músculo sóleo de cada grupo de tratamiento:

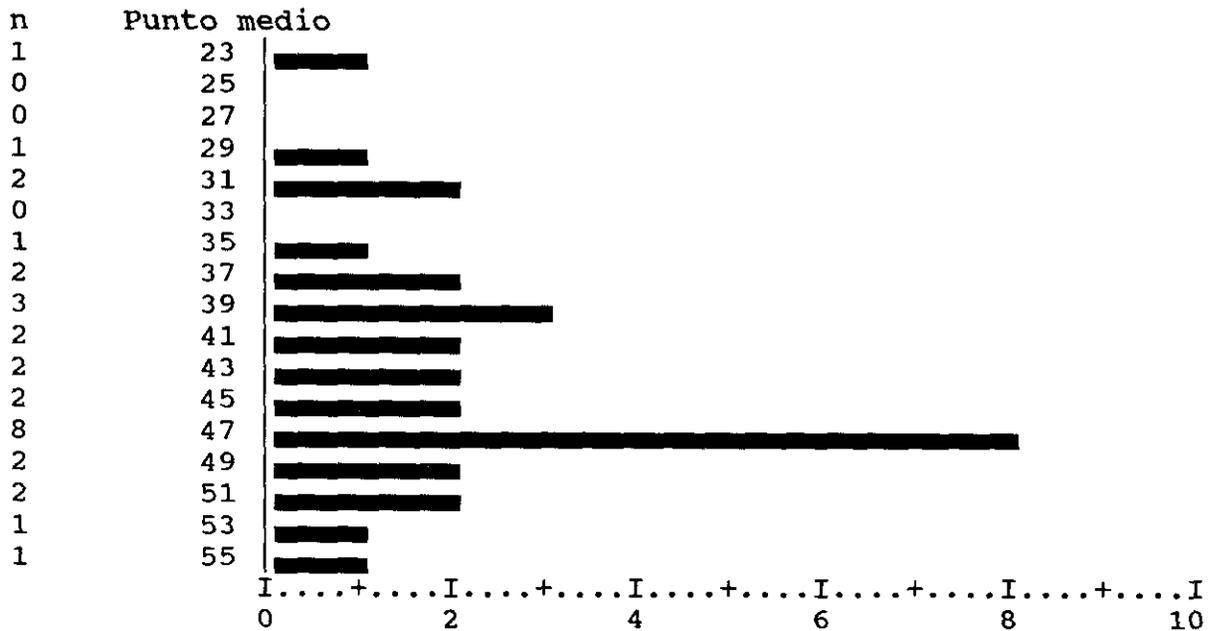
	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	48,8800	2,3019	1,0295	46,0218	a 51,7382
Grp 2	5	51,2380	2,3503	1,0511	48,3197	a 54,1563
Grp 3	5	55,9260	3,7907	1,6952	51,2194	a 60,6326
Grp 4	5	51,9400	2,1069	0,9422	49,3239	a 54,5561
Grp 5	5	48,4580	3,6718	1,6421	43,8989	a 53,0171
Grp 6	5	48,3760	1,5534	0,6947	46,4472	a 50,3048
Total	30	50,8030	3,6961	0,6748	49,4228	a 52,1832

El análisis de la varianza indica una importante interacción entre las variables independientes VPA y carnitina ($p=0,006$) por lo que no es posible valorar la influencia de cada una de ellas en el resultado.

El estudio de la tabla de estadística descriptiva señala que el VPA aumenta de forma significativa el diámetro de las fibras de tipo I del músculo sóleo, aunque únicamente cuando se administra a dosis muy elevadas (grupo 3) puesto que este efecto no se observa al administrar dosis menores de VPA (grupo 2). La carnitina exógena revierte el efecto de las dosis elevadas de VPA sobre el diámetro de las fibras tipo I del sóleo.

IV.A.2. Diámetro de las fibras tipo II en músculo sóleo

En este caso, la distribución de frecuencias de los diámetros medios se reflejó en el siguiente histograma:



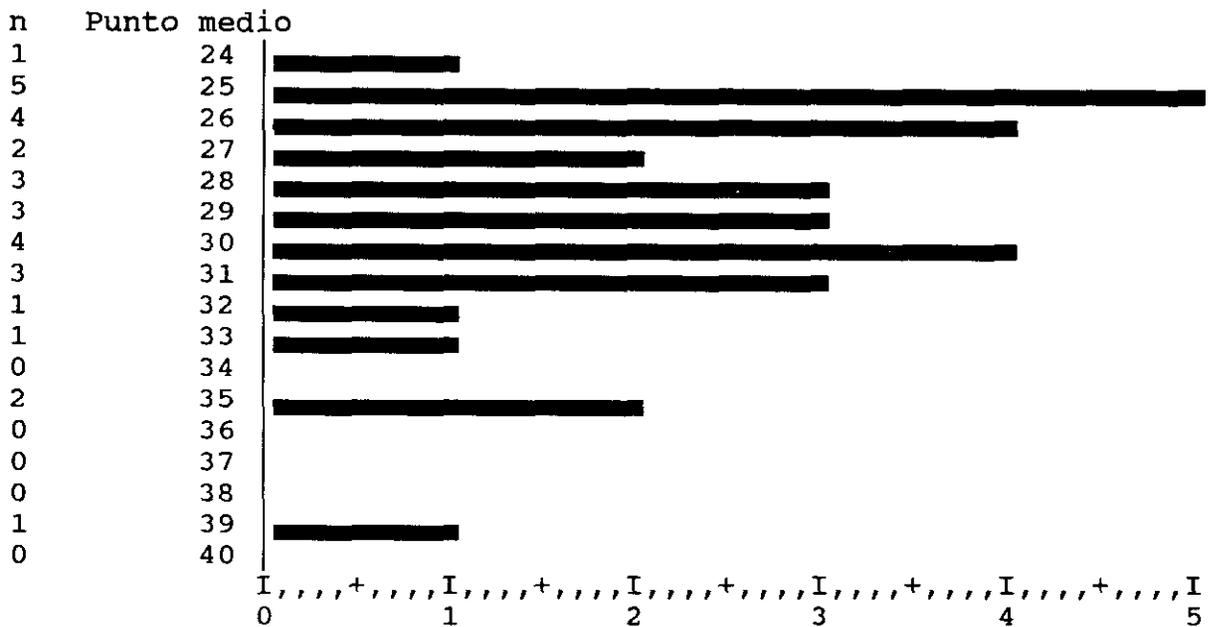
Dentro de cada grupo de tratamiento, los diámetros medios de estas fibras fueron los siguientes:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%
Grp 1	5	42,0340	6,0784	2,7183	34,4868 a 49,5812
Grp 2	5	40,8700	8,0059	3,5804	30,9295 a 50,8105
Grp 3	5	40,3260	9,1955	4,1123	28,9085 a 51,7435
Grp 4	5	41,6380	12,1834	5,4486	26,5106 a 56,7654
Grp 5	5	45,1220	5,2568	2,3509	38,5950 a 51,6490
Grp 6	5	47,4280	1,1965	0,5351	45,9424 a 48,9136
Total	30	42,9030	7,5316	1,3751	40,0906 a 45,7154

El análisis de la varianza indica que los diámetros medios de las fibras tipo II de cada grupo de tratamiento no pertenecen a clases distintas (varianza explicada, $p=0,674$), por lo que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los mismos.

IV.A.3. Diámetro de las fibras tipo I en músculo ELD

En lo concerniente al músculo extensor largo de los dedos, el histograma de la distribución de frecuencias de los diámetros medios de las fibras de tipo I fué el siguiente:



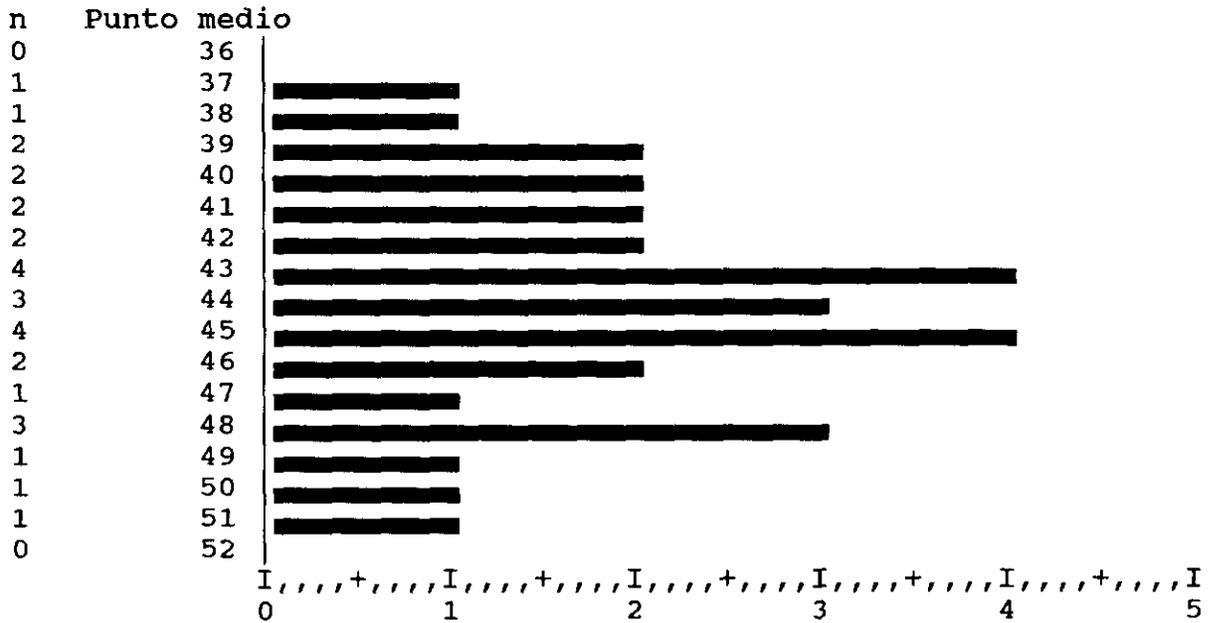
En la tabla que se incluye a continuación, se describen los diámetros medios observados en cada grupo de tratamiento:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%	
Grp 1	5	28,6340	4,6320	2,0715	22,8828	a 34,3852
Grp 2	5	29,6960	4,2892	1,9182	24,3703	a 35,0217
Grp 3	5	28,9820	2,0387	0,9117	26,4507	a 31,5133
Grp 4	5	30,1940	5,4169	2,4225	23,4682	a 36,9198
Grp 5	5	30,4280	1,3385	0,5986	28,7660	a 32,0900
Grp 6	5	25,6000	0,8345	0,3732	24,5639	a 26,6361
Total	30	28,9223	3,6265	0,6621	27,5682	a 30,2765

El análisis de la varianza indica que los diámetros medios de las fibras tipo I en el músculo ELD de cada grupo de tratamiento no pertenecen a poblaciones distintas (varianza explicada, $p=0,324$), y no presentan diferencias estadísticamente significativas entre los mismos.

IV.A.4. Diámetro de las fibras tipo II en músculo ELD

El diámetro de las fibras tipo II del músculo ELD presentó la distribución de frecuencias que se refleja en el histograma:



Los diámetros medios en cada grupo quedan reflejados en la tabla:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%		
Grp 1	5	44,0180	2,8140	1,2585	40,5240	a	47,5120
Grp 2	5	41,7520	3,8879	1,7387	36,9246	a	46,5794
Grp 3	5	40,4280	2,2257	0,9953	37,6645	a	43,1915
Grp 4	5	47,0900	3,1293	1,3995	43,2045	a	50,9755
Grp 5	5	44,9380	2,0171	0,9021	42,4334	a	47,4426
Grp 6	5	45,3820	3,5224	1,5753	41,0084	a	49,7556
Total	30	43,9347	3,5606	0,6501	42,6051	a	45,2642

El análisis de las varianzas de la variable dependiente con respecto a las variables independientes VPA y carnitina indica que no existe interacción entre éstas, y que únicamente la carnitina produce un efecto significativo sobre el resultado (VPA, $p=0,286$; carnitina, $p=0,002$).

Aunque los diámetros medios de las fibras tipo II de cada grupo pertenecen a clases distintas (varianza explicada, $p=0,020$), en la prueba de contraste de medias de Scheffe se observa que ninguna diferencia entre grupos presenta significación estadística para un nivel de 0,05.

IV.B. Hígado

El estudio con microscopía óptica convencional de los cortes histológicos de hígado tomados en las 30 ratas distribuidas en los 6 grupos de tratamiento no demuestra la presencia de alteraciones relevantes en ninguno de ellos. En concreto, no se ha observado esteatosis con vacuolas de tamaño pequeño o grande, fibrosis, presencia de células inflamatorias, hialina de Mallory, cuerpos de Councilman o acúmulo de pigmento biliar.

IV.C. Corazón

El estudio con microscopía óptica convencional de los cortes histológicos de corazón tomados en las 30 ratas distribuidas en los 6 grupos de tratamiento no demuestra la presencia de alteraciones relevantes en ninguno de ellos. En concreto no se ha observado acúmulo de material lipídico, necrosis de fibras, fibrosis o presencia de células inflamatorias.

V. Resultados del estudio ultraestructural

No se han observado diferencias cuantitativas valorables mediante visión directa en el número y superficie total ocupada por el material lipídico entre los distintos grupos de tratamiento, tanto en lo relativo al músculo sóleo como en lo relativo al músculo ELD. Tampoco se ha observado mediante visión directa la presencia de inclusiones cristalinas o paracristalinas en el interior de las mitocondrias de los músculos sóleo y ELD de ninguno de los grupos de tratamiento, ni imágenes de borramiento de crestas mitocondriales.

V.A. Area mitocondrial

El área mitocondrial se midió morfométricamente en los músculos sóleo y ELD de cada grupo de tratamiento.

Todas las mediciones relativas al área mitocondrial incluidas en las tablas están expresadas en micras cuadradas (μ^2). La densidad de volumen mitocondrial constituye el porcentaje de la fibra muscular ocupado por

mitocondrias, según el principio de Delesse (Engel AG, 1986a).

V.A.1. Superficie mitocondrial en músculo sóleo

La descripción de las áreas mitocondriales medias y de la DVM media en el músculo sóleo de cada grupo de tratamiento es la siguiente:

	n	Media	DE	EEM	DVM
Grp 1	68	0,0951	0,0853	0,0102	7,43
Grp 2	70	0,0848	0,0404	0,0049	6,82
Grp 3	120	0,0364	0,0183	0,0017	5,02
Grp 4	44	0,0628	0,0545	0,0082	3,18
Grp 5	53	0,0530	0,0423	0,0058	3,23
Grp 6	66	0,0791	0,0791	0,0059	6,00
Total	421	0,0685	0,0218	0,0089	5,52

Con relación a las áreas medias, la prueba de comparación de múltiples medias de Newman-Keuls con 415 grados de libertad da lugar a los siguientes resultados (los asteriscos indican significación estadística, $p < 0,05$):

Media	Grupo	3	5	4	6	2	1
0,0364	Grp 3						
0,0530	Grp 5	*					
0,0628	Grp 4	*					
0,0791	Grp 6	*	*				
0,0848	Grp 2	*	*	*			
0,0951	Grp 1	*	*	*			

G G G G G G
 r r r r r r
 p p p p p p

Este resultado indica que el área mitocondrial media en las fibras del músculo sóleo (fibras tipo I) es significativamente menor en el grupo tratado con VPA dosis mayor sin carnitina (grupo 3) que en el resto de los grupos de tratamiento (grupos 1, 2, 4, 5 y 6).

A su vez, las áreas mitocondriales medias de los grupos tratados con VPA dosis mayor más carnitina (grupo 5) y con VPA dosis menor más carnitina (grupo 4) son significativamente menores que las del grupo control (grupo 1) y que las del grupo tratado con VPA dosis menor sin carnitina (grupo 2).

No obstante, al considerar la DVM, los grupos tratados con VPA a cualquier dosis más carnitina (grupos 4 y 5) presentaron una densidad significativamente menor que la del resto de los grupos (grupos 1, 2, 3 y 6).

V.A.2. Superficie mitocondrial en músculo ELD

Los resultados correspondientes al área mitocondrial media y a la DVM media en el músculo ELD fueron los siguientes:

	n	Media	DE	EEM	DVM
Grp 1	60	0,0433	0,0333	0,0043	2,99
Grp 2	37	0,1075	0,0989	0,0163	4,57
Grp 3	44	0,0831	0,0580	0,0087	4,20
Grp 4	61	0,0409	0,0209	0,0027	2,87
Grp 5	21	0,0519	0,0358	0,0080	1,25
Grp 6	27	0,0484	0,0283	0,0056	1,39
Total	250	0,0625	0,0268	0,0109	2,99

La prueba de Newman-Keuls con 244 grados de libertad ofrece el siguiente resultado:

			G G G G G G
			r r r r r r
			P P P P P P
Media	Grupo		4 1 6 5 3 2
0,0409	Grp 4		
0,0433	Grp 1		
0,0484	Grp 6		
0,0519	Grp 5		
0,0831	Grp 3		* * * *
0,1075	Grp 2		* * * * *

El área mitocondrial media en las fibras del músculo ELD (fibras tipo II) es significativamente mayor en los grupos tratados con VPA sin carnitina (grupos 2 y 3) que en el resto de los grupos (grupos 1, 4, 5 y 6). Además, la del grupo 2 también es significativamente mayor que la del grupo 3.

Con respecto a la DVM, también las de los grupos tratados con VPA sin carnitina (grupos 2 y 3) es significativamente mayor que la del resto de los grupos (grupos 1, 4, 5 y 6).

V.B. Grosor de la banda Z

El grosor o anchura de la banda Z fué cuantificado morfométricamente en los músculos sóleo y ELD. Todas las mediciones relativas a la banda Z están expresadas en nanómetros (mμ).

V.B.1. Grosor de la banda Z en músculo sóleo

La descripción de los grosores medios de la banda Z en el músculo sóleo de los grupos de tratamiento fué la siguiente:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%
Grp 1	30	126,0000	13,7966	2,5189	120,8483 a 131,1517
Grp 2	30	129,0000	11,5520	2,1091	124,6864 a 133,3136
Grp 3	30	123,3333	13,4762	2,4604	118,3012 a 128,3654
Grp 4	30	146,3333	15,1960	2,7744	140,6590 a 152,0076
Grp 5	30	145,0000	12,7982	2,3366	140,2211 a 149,7789
Grp 6	30	152,0000	18,2700	3,3356	145,1779 a 158,8221
Total	180	136,9444	18,0346	1,3442	134,2919 a 139,5970

V.B.2. Grosor de la banda Z en músculo ELD

Con respecto al músculo ELD, las anchuras medias medias de la banda Z se recogen en la siguiente tabla:

	n	Media	DE	EEM	IC 95%
Grp 1	30	73,0000	13,6836	2,4983	67,8905 a 78,1095
Grp 2	30	83,6667	12,4522	2,2735	79,0169 a 88,3164
Grp 3	30	102,3333	13,3089	2,4299	97,3637 a 107,3030
Grp 4	30	76,3333	8,5029	1,5524	73,1583 a 79,5084
Grp 5	30	88,3333	9,8553	1,7993	84,6533 a 92,0134
Grp 6	30	99,3333	12,2990	2,2455	94,7408 a 103,9258
Total	180	87,1667	15,9705	1,1904	84,8177 a 89,5156

Para cada grupo de tratamiento, el grosor de la banda Z fué significativamente mayor en las fibras del músculo sóleo (fibras tipo I) que en las del músculo ELD (fibras tipo II) (Newman-Keuls, 348 grados de libertad).

DISCUSION

La discusión se estructurará siguiendo la misma línea de exposición que en el apartado Resultados.

I. Desarrollo de la fase experimental

Las dosis de VPA utilizadas en nuestro estudio fueron de 15 mg/día y 25 mg/día, correspondientes a 87,36 mg/kg/día y 145,6 mg/kg/día al inicio de la fase experimental, y a 56,4 mg/kg/día y 94,0 mg/kg/día al final de la misma.

Tanto al inicio como al final de la fase experimental, la dosis de VPA administrada a los grupos de animales tratados con este fármaco es muy superior a la recomendada en clínica, que oscila entre 15 y 30 mg/kg/día (dependiendo de la edad) para conseguir niveles plasmáticos terapéuticos de 40 mg/mL como mínimo.

En modelos experimentales publicados en la literatura en relación con los efectos del VPA sobre las concentraciones de carnitina se han utilizado dosis de VPA de 100 mg/kg de forma aguda (Coude FX et al, 1981), 500 mg/kg/día durante 7 días con y sin 200 mg/kg/día de carnitina (Sugimoto T et al, 1987a; Sugioto T et al, 1987b; Nishida N et al, 1987), 50 mg/kg de forma aguda (Rozas I et al, 1990; Camiña MF et al, 1991a), 150 mg/kg/día durante 7 días (Camiña MF et al, 1991b) y 50 mg/kg/día durante 7 y 28 días (Murakami K et al, 1990).

Con respecto a la carnitina exógena, en nuestro estudio se administró una dosis de 10 mg/día, que corresponden a 58,24 mg/kg/día al inicio de la fase experimental, y a

37,6 mg/kg/día al final de la fase experimental. Estas dosis son relativamente similares a las que se utilizan en clínica y que oscilan entre 14,3 mg/kg/día y 71,4 mg/kg/día, según la indicación.

En nuestro estudio, todos los animales sobrevivieron a la fase experimental. En ningún caso se observaron signos de estupor, coma, debilidad, hipotonía o dificultades para el movimiento en los animales de los distintos grupos de tratamiento, signos que, aunque se pueden detectar en los casos de SDC miopático y sistémico en el ser humano, tampoco han sido observados en los modelos experimentales citados (Coude FX et al, 1981; Sugimoto T et al, 1987a; Sugimoto T et al, 1987b; Nishida N et al, 1987; Murakami K et al, 1990; Camiña F et al, 1991).

II. Peso corporal

El peso final medio de toda la muestra corresponde al peso esperado en ratas Wistar con una edad similar a la de nuestra muestra, y no difiere significativamente del peso medio de nuestro grupo control (grupo 1), por lo que se puede afirmar que el tratamiento con VPA y/o carnitina no indujo modificaciones importantes en los pesos de las ratas.

La diferencia significativa que existe entre el peso inicial medio y el peso final medio dentro de cada grupo de tratamiento está en relación con la curva de crecimiento de la rata Wistar (Lindboe CF et al, 1985).

La ausencia de significación estadística en la comparación de los pesos medios de cada grupo de

tratamiento al final de la fase experimental tiene relevancia debido a que en el ser humano se ha observado que la administración de VPA puede dar lugar, como efecto secundario significativo que requiere en ocasiones la interrupción del tratamiento, a un incremento importante del peso corporal (Egger J et al, 1981).

En un estudio sobre 63 pacientes epilépticos tratados con VPA, Dinesen y colaboradores observaron que el 57% aumentó su peso corporal en una media de 7,5 kg durante el tratamiento mientras que el 43% restante permaneció estable o bien incrementó su peso menos de 4 kg. Entre ambos grupos no existieron diferencias importantes en cuanto al apetito, sed y predisposición familiar a la obesidad y la diabetes, ni tampoco en cuanto a edad, sexo, duración del tratamiento, dosis de VPA ni concentraciones séricas de valproato. Ningún paciente presentó signos de retención hídrica. Los autores concluyen señalando que el VPA parece aumentar el peso debido a un incremento en el tejido adiposo de causa desconocida (Dinesen H et al, 1984).

No obstante, Nishida y colaboradores, y Murakami y colaboradores, en modelos experimentales sobre rata Wistar con diseños muy similares al del nuestro, tampoco observaron diferencias significativas en el peso medio entre los grupos de tratamiento que recibieron VPA y los que no lo recibieron (Sugimoto T et al, 1987a; Sugimoto T et al, 1987b; Nishida N et al, 1987; Murakami K et al, 1990). Tampoco las observaron Camiña y colaboradores en un modelo también similar al nuestro aunque sobre ratón Swiss albino (Camiña MF et al, 1991b).

En lo relativo a la carnitina, aunque parece poseer un

efecto trófico sobre diversos tejidos como músculo esquelético (Spagnoli LG et al, 1990), hígado (Blaha V et al, 1990) y nervio periférico (Fernandez E et al, 1990), no se ha observado que produzca modificaciones en el peso corporal en el ser humano ni en animales de experimentación (Sugimoto T et al, 1987a; Sugimoto T et al, 1987b; Nishida N et al, 1987).

III. Estudio bioquímico

El estudio bioquímico llevado a cabo se ha efectuado sobre plasma, hígado y músculo sóleo, debido a que constituyen tres compartimentos donde es probable que la administración de VPA refleje la aparición de modificaciones en el metabolismo lipídico relacionado con la carnitina.

III.A. Plasma

En conjunto, la interacción estadística observada en el análisis de la varianza entre el VPA y la carnitina en el plasma ha sido muy intensa en los cinco parámetros estudiados, por lo que las diferencias observadas entre los grupos de tratamiento, aún siendo estadísticamente significativas en lo relativo a cuatro de los parámetros, no pueden ser atribuidas a la acción independiente de ninguno de los dos fármacos sino a la interacción entre ambos.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio indican que, a nivel plasmático, el VPA disminuyó de forma significativa la concentración de CL y aumentó la de ésteres de carnitina de cadenas larga (LCAC) y corta

(SCAC), y que ambos efectos fueron dependientes de la dosis. La administración de carnitina exógena produjo una reversión de los efectos del VPA sobre la CL y los LCAC, así como un incremento del efecto del VPA sobre los SCAC.

Por otra parte, el VPA incrementó el cociente AC/CL de una forma dependiente de la dosis, y este efecto también fué contrarrestado por la carnitina exógena, posiblemente porque el efecto de ésta tuvo mayor intensidad sobre los LCAC que sobre los SCAC.

En lo que respecta a la concentración plasmática de CTOT, el VPA no produjo modificaciones significativas en las ratas que recibieron esta medicación.

La mayor parte de los autores que han estudiado estas modificaciones en pacientes tratados con VPA han observado disminución de la concentración plasmática de CL, incremento en la de AC y en el cociente AC/CL, y disminución del nivel de CTOT (Ohtani Y et al, 1982; Laub N et al, 1986; Melegh B et al, 1990; Beghí E et al, 1990; Shapira Y et al, 1991; Opala G et al, 1991; Riva R et al, 1991). En la serie de Ohtani y colaboradores, el efecto del VPA tuvo un carácter dependiente de la dosis (Ohtani Y et al, 1982). En tres de estas series de estudio, las modificaciones producidas por el VPA sobre los niveles plasmáticos de CL y AC fueron totalmente revertidas por la administración de carnitina (Ohtani Y et al, 1982; Melegh B et al, 1990; Shapira Y et al, 1991).

A nivel experimental, se han realizado varios estudios a este respecto (Sugimoto T et al, 1987a; Sugimoto T et al, 1987b; Nishida N et al, 1987; Murakami K et al, 1990; Camiña MF et al, 1991a; Camiña MF et al, 1991b).

Nishida y colaboradores estudiaron en la rata Wistar el efecto producido por la administración de VPA (500 mg/kg/día) y de VPA (500 mg/kg/día) más L-carnitina (200 mg/kg/día) durante 7 días sobre los niveles de CL y AC en plasma, hígado, músculo esquelético, orina y hematíes. Con respecto al grupo control, las ratas tratadas con VPA presentaron disminución en las concentraciones de CL y de CTOT, y aumento en la concentración de AC y en el cociente AC/CL en plasma. En el grupo tratado con VPA más carnitina se invirtieron estas alteraciones de manera que los niveles de plasmáticos de CL, AC y CTOT fueron significativamente mayores que en el grupo control, mientras que el cociente AC/CL fué significativamente menor (Nishida N et al, 1987; Sugimoto T et al, 1987a; Sugimoto T et al, 1987b).

Este mismo grupo de investigación estudió posteriormente, también en la rata Wistar, el efecto producido por la administración de VPA (50 mg/kg/día) durante 7 y 28 días, sobre los niveles de CL y AC en plasma, hígado, músculo esquelético, orina y hematíes. A los 7 días no se observaron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de AC y CL, ni tampoco en los valores de CTOT y AC/CL, entre el grupo control y el grupo tratado con VPA. No obstante, a los 28 días de tratamiento, en este último grupo se observaron niveles plasmáticos significativamente menores de CL y mayores de AC, así como un cociente AC/CL también significativamente mayor, con respecto al grupo control (Murakami K et al, 1990).

Camiaña y colaboradores estudiaron en el ratón Swiss albino los efectos producidos por la administración de VPA (150 mg/kg/día) durante 7 días sobre los niveles de CL, AC y CTOT, y sobre el cociente AC/CL, en plasma,

hígado, músculo esquelético, corazón, riñón y orina. En plasma, y con respecto al grupo control, el VPA produjo disminución de la CL y la CTOT, y aumento en el nivel de AC y en el cociente AC/CL, aunque en todos los casos sin significación estadística (Camiña MF et al, 1991a).

Posteriormente, los mismos investigadores estudiaron la evolución en el ratón Swiss albino de las concentraciones de CL y AC en plasma, hígado, músculo esquelético, corazón y riñón tras la administración de una única dosis terapéutica de VPA. A nivel plasmático, el VPA dió lugar a una disminución significativa de la concentración de CL y de AC (Camiña MF et al, 1991b).

El mecanismo más probable para explicar los efectos del VPA sobre las concentraciones plasmáticas de CL es el incremento en el requerimiento intramitocondrial de carnitina para tamponar el exceso de residuos acil-CoA de cadena corta (acetil-CoA, valproil-CoA) producido por la entrada del VPA en la mitocondria (Stumpf DA et al, 1985), así como la inhibición en la reabsorción tubular renal de carnitina libre producida por el VPA (Engel AG et al, 1981).

En la matriz mitocondrial se formarían grandes cantidades de SCAC, principalmente acetil-carnitina y valproil-carnitina (Bohan TP et al, 1984), que abandonarían la mitocondria por acción de la acilcarnitina translocasa alcanzando el plasma e incrementando los niveles de AC en este compartimento, a pesar de que el VPA inhibe la reabsorción tubular renal de AC (Ohtani Y et al, 1984).

La inhibición de la β -oxidación mitocondrial inducida por el VPA (Haas R et al, 1981) daría lugar también a una acumulación de residuos acil-CoA de cadena larga que

serían eliminados de la mitocondria hacia el plasma en forma de LCAC.

Estos efectos dependerían de la dosis de VPA administrada debido a que al aumentar la cantidad de este ácido que alcanza la mitocondria se incrementarían de forma cuantitativa los mecanismos que acabamos de señalar.

Con respecto a la l-carnitina exógena, su administración incrementa las reservas de carnitina en todos los compartimentos, por lo que aumenta la concentración plasmática de CL. Por otra parte, el aumento de carnitina en la mitocondria facilita la eliminación de SCAC hacia el plasma y disminuye la concentración plasmática de LCAC al facilitar su entrada en la propia mitocondria y dirigirlos hacia la β -oxidación.

III.B. Hígado

En nuestro estudio, el VPA disminuyó el nivel de CL en hígado de una forma dependiente de la dosis, y la carnitina exógena revirtió este efecto.

Con respecto a las acilcarnitinas, el VPA incrementó significativamente la concentración de LCAC en hígado, efecto que fué independiente de la dosis administrada y que desapareció al administrar carnitina exógena. Por otra parte, el VPA no modificó significativamente los niveles hepáticos de SCAC ni de CTOT.

En lo relativo al cociente AC/CL en tejido hepático, el VPA dió lugar a un incremento significativo del mismo, efecto que tuvo un carácter dependiente de la dosis y que

desapareció al administrar carnitina exógena.

A nivel clínico no existen estudios sobre las concentraciones hepáticas de CL y AC en pacientes tratados con VPA.

A nivel experimental, en la rata Wistar, Nishida y colaboradores no observaron diferencias significativas entre las concentraciones hepáticas de CL, AC y CTOT del grupo control y las del grupo tratado con VPA (500 mg/kg/día, 7 días) (Nishida N et al, 1987), así como tampoco Murakami y colaboradores en un modelo experimental similar con duraciones de tratamiento distintas (VPA 50 mg/kg/día, 7 y 28 días).

Camiaña y colaboradores observaron unos niveles hepáticos de CL y CTOT significativamente mayores en ratones tratados con VPA (150 mg/kg/día, 7 días) que en el grupo control, sin diferencias significativas en lo relativo a los niveles de AC y al cociente AC/CL. Los autores señalan que la disminución de CL en plasma puede inducir un incremento en la síntesis hepática de carnitina (Camiaña MF et al, 1991b).

El metabolismo completo de los residuos acil requiere su procesamiento hepático, de manera que son transportados desde los tejidos hasta el hígado en forma de AC donde son reconvertidos en acil-CoA y metabolizados (Stumpf DA et al, 1985). Además, existe un flujo activo de carnitina libre desde el músculo y otros tejidos hacia el hígado (Stumpf DA et al, 1985). Por ello, es poco probable que se pueda producir deficiencia de carnitina en hígado. Por otra parte, el hígado puede incrementar la síntesis de carnitina a partir de γ -butirobetaina (Rebouche CJ et al, 1980a).

En nuestro caso, el VPA a dosis mayor (25 mg/día) produjo una disminución significativa en la concentración hepática de CL, lo que constituye posiblemente la ratificación estadística de la tendencia observada en los modelos de Nishida y Murakami (Nishida N et al, 1987; Murakami K et al, 1990), con la diferencia de que en nuestro estudio la duración del tratamiento fué de 90 días.

El mecanismo más probable es el agotamiento de la carnitina intramitocondrial por el incremento de residuos acil de cadena corta, de una forma similar a la comentada previamente en el compartimento plasmático.

III.C. Músculo sóleo

Nuestros resultados señalan que el VPA aumentó significativamente y de forma dependiente de la dosis la concentración de LCAC y el cociente AC/CL en músculo sóleo, y que este efecto fué revertido por la administración de carnitina exógena en ambos casos.

Con respecto a los demás parámetros estudiados en músculo sóleo (CL, SCAC y CTOT), no existieron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento.

A nivel clínico, el único estudio en el que se han recogido los niveles intramusculares de carnitina en pacientes tratados con VPA es el de Shapira y colaboradores, que observaron disminución en la CTOT muscular (vasto lateral) en 6 de un grupo de 7 pacientes (Shapira Y et al, 1991).

A nivel experimental, Nishida y colaboradores observaron una disminución significativa de la CL y la CTOT intramusculares, y un incremento significativo de AC y AC/CL en ratas Wistar tratadas con VPA (500 mg/kg/día, 7 días) respecto al grupo control (Nishida N et al, 1987)

Murakami y colaboradores, en ratas Wistar tratadas con VPA (50 mg/kg/día, 7 y 28 días) observaron una disminución significativa de CL y un incremento significativo de AC intramusculares únicamente en el grupo tratado durante 28 días (Murakami K et al, 1990).

Camiña y colaboradores, en su modelo experimental comentado previamente, no encontraron diferencias significativas en las concentraciones intramusculares de CL, AC y CTOT, ni en el cociente AC/CL, entre el grupo tratado con VPA (150 mg/kg/día, 7 días) y el grupo control (Camiña MF et al, 1991b).

El mecanismo más probable para explicar el incremento intramuscular en los LCAC, y en consecuencia en el cociente AC/CL, en nuestro estudio puede ser la inhibición de la β -oxidación producida por el VPA, que daría lugar a una acumulación intramitocondrial de residuos acil-CoA de cadena larga, que serían eliminados hacia el sarcoplasma en forma de LCAC.

IV. Estudio con microscopía óptica

IV.A. Músculo esquelético

En el estudio morfológico convencional del músculo esquelético, el dato más relevante de nuestro trabajo ha

sido la ausencia de depósito de material lipídico en las fibras musculares de las ratas tratadas con VPA, lo que quiere decir que el VPA no indujo el cuadro histológico de miopatía lipídica en ninguno de los animales que lo recibieron, incluso los incluidos en el grupo tratado con VPA dosis mayor sin carnitina (grupo 3).

La deficiencia de carnitina, tanto miopática como sistémica, constituye la causa más frecuente de miopatía lipídica (Engel AG, 1986b). El mecanismo patogénico consiste en que la ausencia de carnitina impide la entrada de LCFA en la mitocondria, de forma que se acumulan en el espacio intermiofibrilar, en las proximidades de las mitocondrias, en forma de material lipídico visible con microscopía óptica mediante la tinción de Sudán Rojo (Engel AG, 1986b).

En lo relativo al estudio morfométrico del músculo esquelético, las fibras de los mamíferos maduros se pueden clasificar en tipo I (rojas) y tipo II (blancas) mediante métodos bioquímicos, fisiológicos e histoquímicos. A su vez, las fibras tipo II se pueden subclasificar histoquímicamente en tipos IIA, IIB y IIC mediante la tinción para demostración de ATPasa con preincubación a pH 4,6 (4,5 para la rata) y 4,3 (Okada S et al, 1984).

Las fibras de tipo I presentan una contracción lenta y mantenida, y su metabolismo es oxidativo. A nivel histoquímico presentan una coloración clara con la ATPasa a pH 9,4 y oscura para los pH 4,5 y 4,3. A nivel morfológico presentan una mayor dotación de mitocondrias y lipido neutro que las fibras tipo II (Dubowitz V, 1985).

Las fibras de tipo II se contraen de forma rápida y su metabolismo es glucolítico. El subtipo IIA comparte con las fibras tipo I algunas características oxidativas en su metabolismo, mientras que el subtipo IIB tiene un metabolismo exclusivamente glucolítico. Desde el punto de vista histoquímico, las fibras de tipo IIA presentan una coloración intermedia con la ATPasa a pH 4,6 y las fibras de tipo IIB una coloración clara con la misma técnica (Dubowitz V, 1985).

La proporción de los dos tipos básicos de fibras, I y II, en cada músculo es muy variable y depende de la acción fisiológica del mismo (Ariano MA et al, 1973).

En nuestro estudio, elegimos los músculos sóleo (soleus) y ELD (extensor digitorum longus), de la extremidad inferior de la rata, debido a que son músculos totalmente diferentes en cuanto a sus características fisiológicas y su composición de tipos de fibras musculares. En la rata, el sóleo está formado muy mayoritariamente por fibras de tipo I (87%), mientras que el ELD lo está por fibras tipo II (98%) (Armstrong RB et al, 1984).

Nuestros resultados señalan en el músculo sóleo del grupo control una proporción de fibras tipo I del 89,45% y de fibras tipo II del 10,55%, mientras que en el ELD las proporciones en el grupo control han sido del 13,48% y del 86,52%, respectivamente. Estas proporciones se mantuvieron con escasas variaciones en los restantes grupos de tratamiento, lo que indica que ni el VPA ni la carnitina exógena produjeron efectos a este respecto.

En los músculos sóleo de todos los grupos, las fibras tipo I han presentado un diámetro significativamente

mayor que el de las fibras tipo II, excepto en el grupo tratado únicamente con carnitina en el que la diferencia no ha presentado significación estadística. En los músculos ELD de todos los grupos de tratamiento, las fibras de tipo II han presentado un diámetro significativamente mayor que las fibras de tipo I.

Con respecto al músculo sóleo, el VPA produjo un incremento significativo en el diámetro de las fibras tipo I, efecto que tuvo un carácter independiente de la dosis y que únicamente se manifestó en las ratas tratadas con la dosis mayor de VPA. La administración de carnitina exógena eliminó este efecto del VPA.

En este mismo músculo, no existieron diferencias significativas entre los diámetros de las fibras de tipo II de los distintos grupos de tratamiento.

En el músculo ELD, no han existido diferencias significativas en los diámetros de las fibras tipo I ni en los de las fibras tipo II de los distintos grupos de tratamiento.

Aunque a nivel morfométrico la deficiencia de carnitina de cualquier causa puede dar lugar a atrofia de fibras tipo I (Engel AG et al, 1973), no existen publicaciones en la literatura médica sobre el efecto que puede producir el VPA en los diámetros de los distintos tipos de fibras. Con respecto a la carnitina, sí se ha observado un efecto trófico selectivo sobre las fibras de tipo I en pacientes con deficiencia de carnitina secundaria a hemodiálisis (Spagnoli LG et al, 1990), efecto que no ha sido demostrado en nuestro estudio.

IV.B. Hígado

El dato más relevante obtenido en nuestro estudio con relación al hígado es la ausencia de alteraciones vacuolares en los hepatocitos y de depósito de material lipídico en los mismos con la técnica de Sudán Rojo sobre corte congelados.

En la literatura médica no existen estudios clínicos ni experimentales sobre los posibles efectos morfológicos hepáticos que puede dar lugar la administración de VPA, excepto en los casos mortales de deficiencia sistémica de carnitina secundaria al VPA con cuadros de insuficiencia hepática aguda de tipo Reye, en los que se ha observado histológicamente una esteatosis microvacuolar con predominio pericentral en el hígado de los pacientes (Zimmerman H et al, 1982).

IV.C. Corazón

El dato más relevante obtenido en nuestro estudio con relación al corazón es la ausencia de alteraciones vacuolares en los miocitos y de depósito de material lipídico en los mismos con la técnica de Sudán Rojo sobre cortes congelados.

No existen datos morfológicos en la literatura médica sobre el estado del corazón en los pacientes fallecidos por deficiencia sistémica de carnitina con insuficiencia hepática aguda secundaria al tratamiento con VPA, aunque en las deficiencias sistémicas de carnitina de otros orígenes se ha demostrado en la autopsia la acumulación de material lipídico en miocardio (Boudin G et al, 1976; Ware AJ et al, 1978).

V. Estudio con microscopía electrónica

Aunque la clasificación original de las fibras musculares en fibras tipo I y II se realizó sobre bases histoquímicas, se ha intentado repetidas veces correlacionar estas características histoquímicas con las características ultraestructurales de las fibras, tanto en animales de experimentación (Schiaffino SV et al, 1970) como en el ser humano (Cullen MJ et al, 1975), de manera que, en términos generales, en los animales vertebrados como la rata se acepta que a nivel ultraestructural las fibras tipo I presentan mayor DVM, mayor cantidad de lípidos y bandas Z más anchas que las fibras tipo II (Cullen MJ et al, 1975).

En nuestro estudio, la DVM y la anchura de la banda Z fueron significativamente mayores en las muestras para estudio ultraestructural tomadas de los músculos sóleo que en las tomadas de los músculos ELD, lo que indica que las primeras correspondían a fibras tipo I y las segundas a fibras tipo II.

En el examen convencional con microscopía electrónica no hemos observado diferencias sustanciales en la dotación lipídica de los músculos sóleo y ELD entre los distintos grupos de tratamiento, ni tampoco entre ambos tipos de músculo en los grupos control.

Shapira y colaboradores observaron tres casos de miopatía lipídica ultraestructural en pacientes tratados con VPA, en lo que parece constituir la primera observación de este tipo fuera del contexto de la hepatotoxicidad aguda de tipo Reye producida ocasionalmente por el VPA (Shapira Y et al, 1991).

En el estudio ultraestructural del músculo esquelético en los casos de miopatía lipídica producida por deficiencia de carnitina de cualquier causa se ha detectado en las fibras tipo I un incremento importante en el número y superficie ocupada por glóbulos lipídicos no revestidos de membrana que se sitúan a nivel intermiofibrilar, en las proximidades de las mitocondrias (Engel AG, 1986b), y esta misma alteración, con afectación exclusiva de las fibras tipo I, también ha sido observada en un modelo experimental de miopatía lipídica no secundaria a deficiencia de carnitina, en ratas alimentadas con aceite vegetal bromado (Brownell AKW et al, 1978).

En nuestro estudio, el VPA produjo un incremento significativo de la DVM en las fibras del músculo ELD (fibras tipo II), efecto con carácter no dependiente de la dosis y que desapareció tras la administración de carnitina exógena. En las fibras del músculo sóleo (fibras tipo I), el VPA no dió lugar a la aparición de variaciones significativas en la DVM, aunque sí produjo una disminución de la superficie mitocondrial media, efecto dependiente de la dosis y no reversible por la administración de carnitina.

En los cuadros de deficiencia de carnitina, tanto sistémicos como miopáticos, es frecuente que las fibras de tipo I presenten un aumento en la superficie mitocondrial media y en la DVM, así como abundantes inclusiones cristalinas y paracristalinas intramitocondriales, sin afectación significativa de las fibras tipo II (Morgan-Hughes JA, 1986).

A nivel experimental, Murakami y colaboradores observaron en la rata Wistar tratada con VPA (50 mg/kg/día, 28 días)

un incremento en la superficie mitocondrial media de los hepatocitos con respecto al grupo control, efecto que no fué observado cuando el tratamiento tuvo una duración de 7 días (Murakami K et al, 1990). En los modelos experimentales de Sugimoto y colaboradores, también sobre rata Wistar, el VPA (500 mg/kg/día, 7 días) produjo alteraciones similares en las mitocondrias de los hepatocitos, mientras que la carnitina exógena (200/mg/kg/día, 7 días) normalizó el aspecto ultraestructural de las mitocondrias hepatocitarias (Sugimoto T et al, 1987a; Sugimoto T et al, 1987b).

No existen en la literatura médica datos sobre la superficie mitocondrial media o la DVM en el músculo esquelético de pacientes tratados con VPA.

CONCLUSIONES

1. En nuestro estudio sobre rata Wistar, el ácido valproico no ha dado lugar a la aparición de crisis de insuficiencia hepática aguda de tipo Reye ni a cuadros de miopatía lipídica.

2a. El ácido valproico ha producido en plasma disminución de la concentración de carnitina libre e incremento de la concentración de acilcarnitina de cadenas larga y corta.

2b. En tejido hepático, el ácido valproico ha disminuido la concentración de carnitina libre y ha incrementado la de acilcarnitina de cadena larga.

2c. En el músculo sóleo, el ácido valproico ha dado lugar a un aumento de la concentración de acilcarnitina de cadena larga.

2d. Con excepción del incremento de la acilcarnitina de cadena larga en hígado, todas las modificaciones producidas por el ácido valproico sobre las concentraciones de carnitina libre y acilcarnitina en plasma, hígado y músculo sóleo han tenido un carácter dependiente de la dosis.

2e. La carnitina exógena ha revertido todas las alteraciones producidas por el ácido valproico sobre las concentraciones de carnitina libre y acilcarnitina de cadena larga en plasma, hígado y músculo, mientras que ha potenciado el efecto del ácido valproico sobre el nivel plasmático de acilcarnitina de cadena corta.

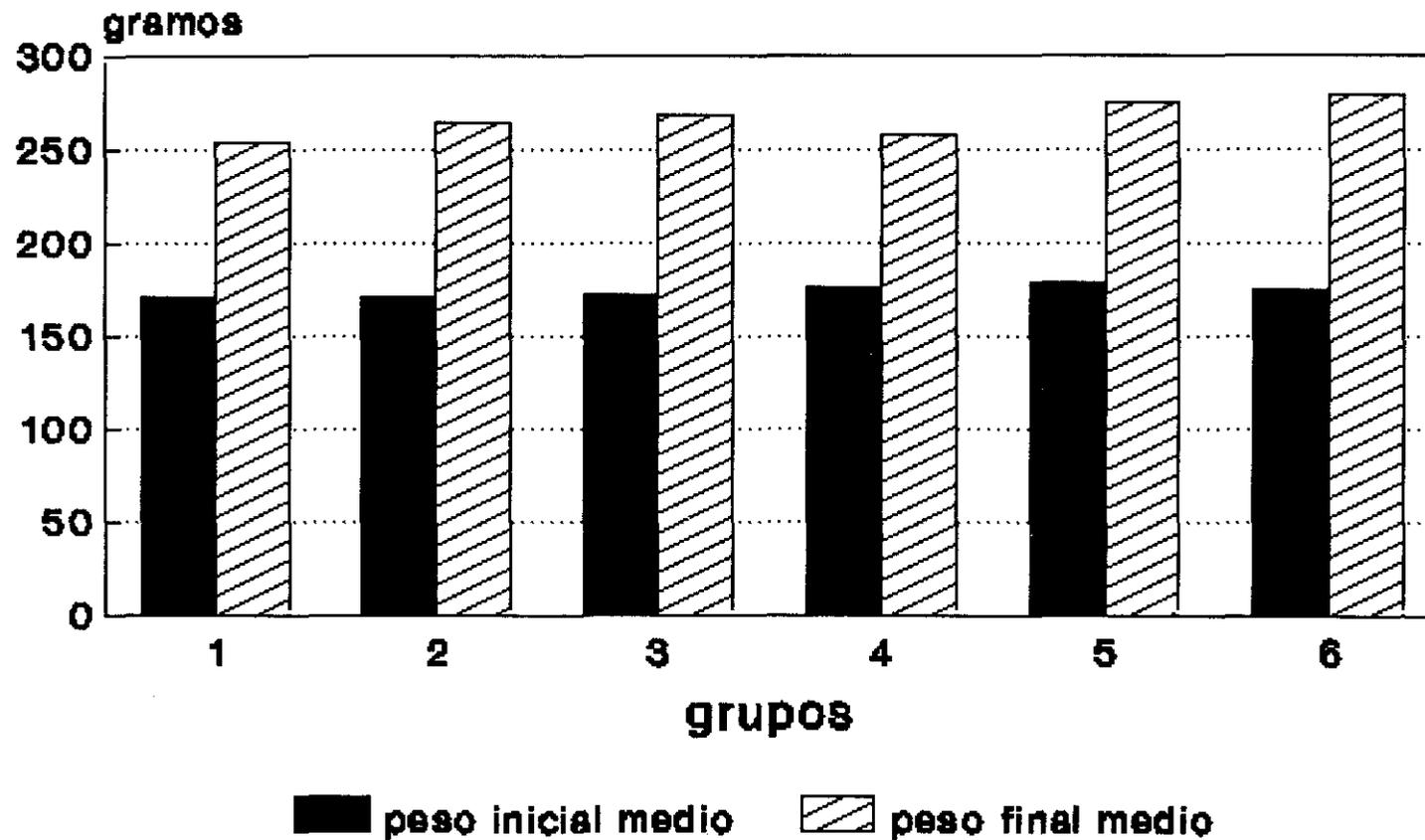
3a. El ácido valproico no ha producido alteraciones relevantes ni depósito de material lipídico en hígado, corazón ni músculo esquelético.

3b. El ácido valproico ha dado lugar a un incremento en el diámetro de las fibras tipo I del músculo sóleo, y en la densidad de volumen mitocondrial del músculo ELD (fibras tipo II), efectos que han sido independientes de la dosis y que han desaparecido tras la administración de carnitina.

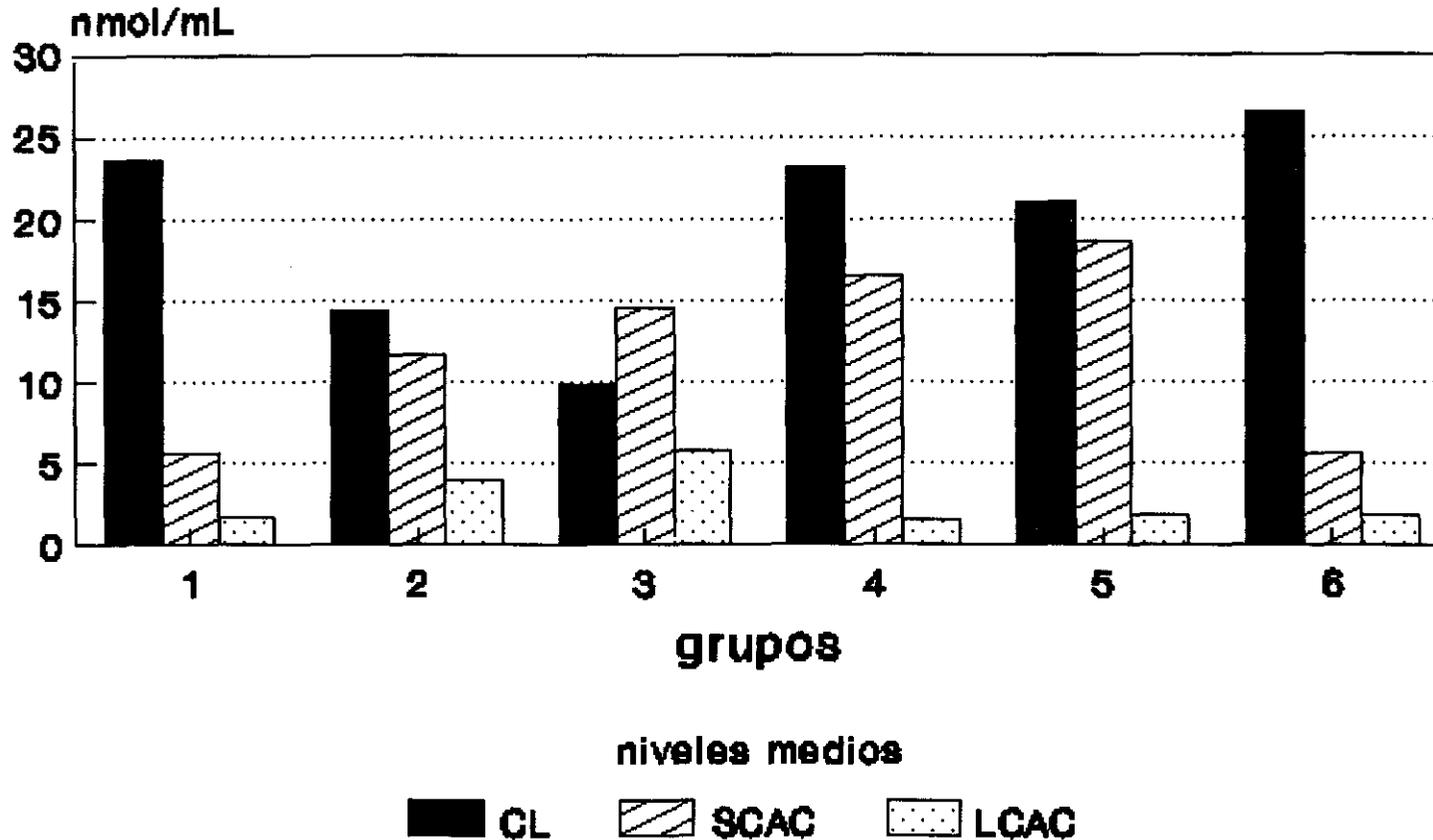
FIGURAS

peso corporal

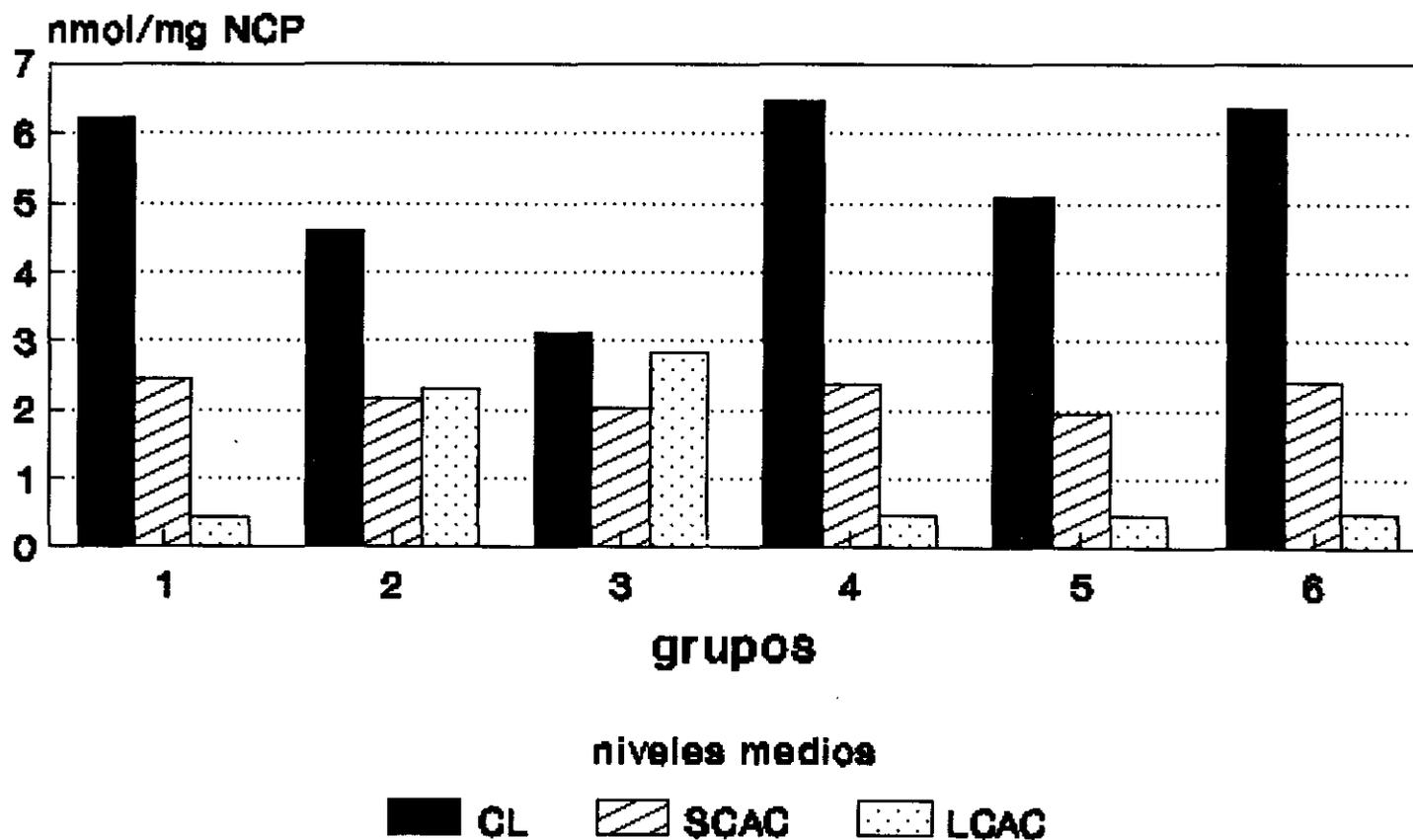
inicio y final de la fase experimental



estudio bioquimico plasma

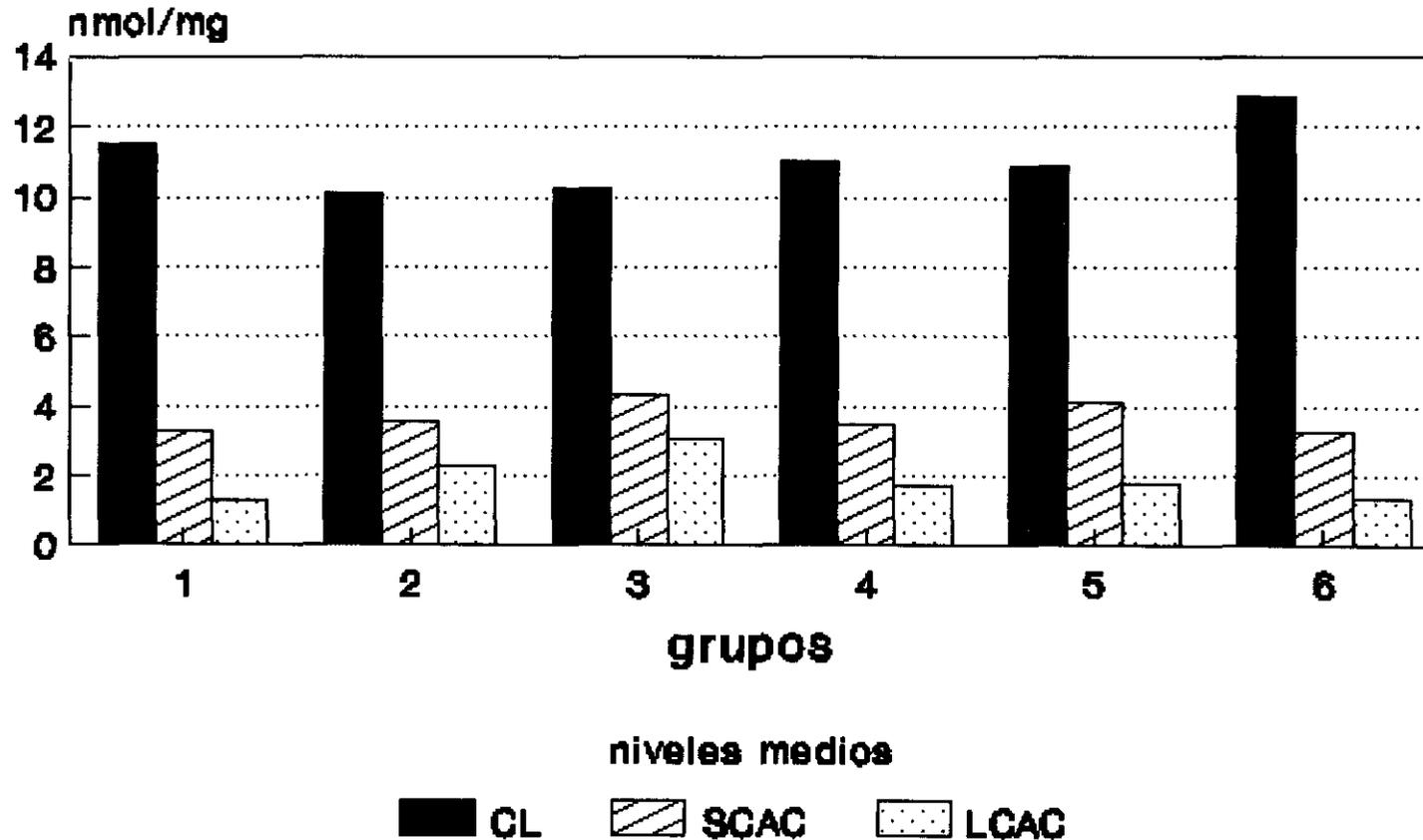


estudio bioquimico higado

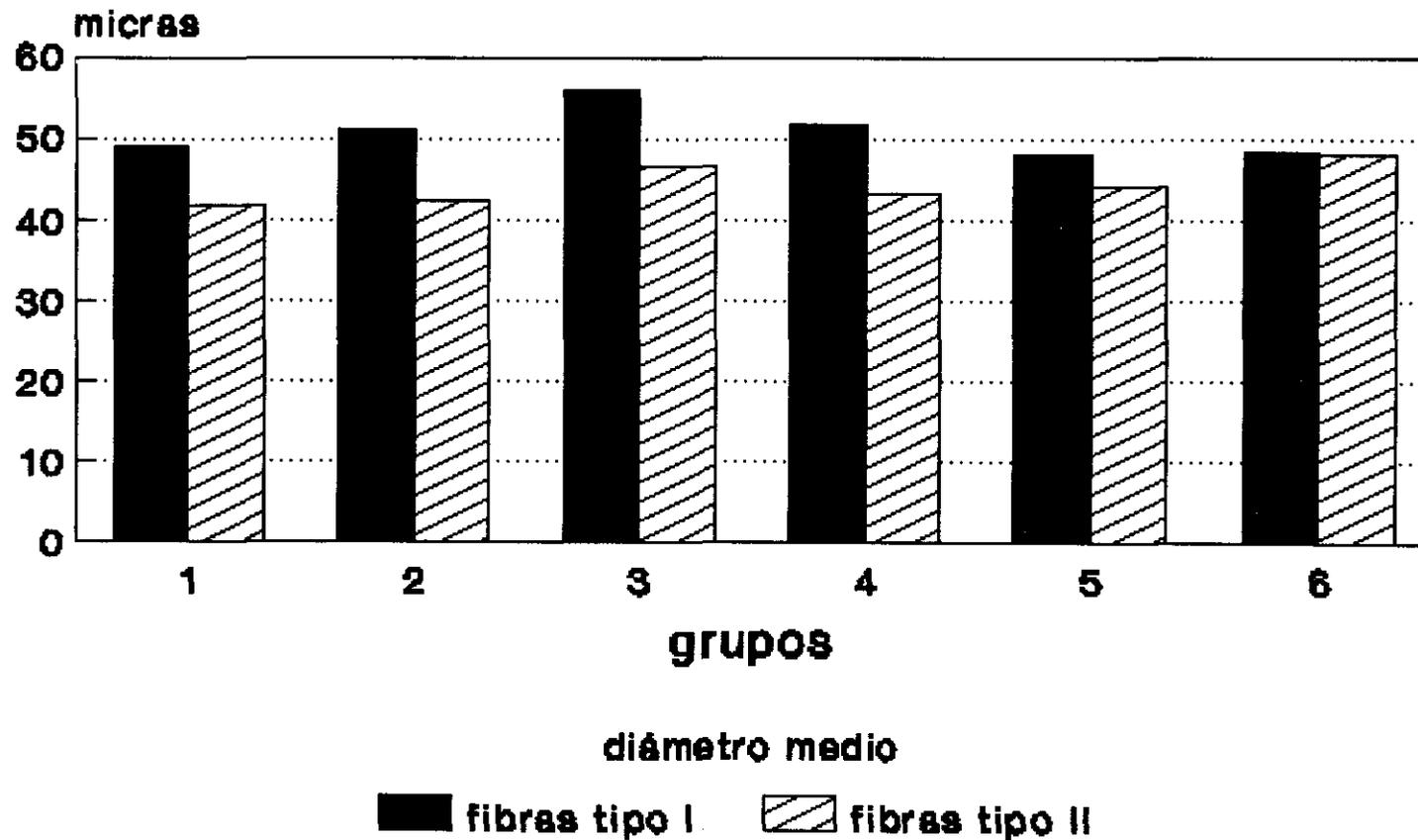


estudio bioquimico

musculo soleo

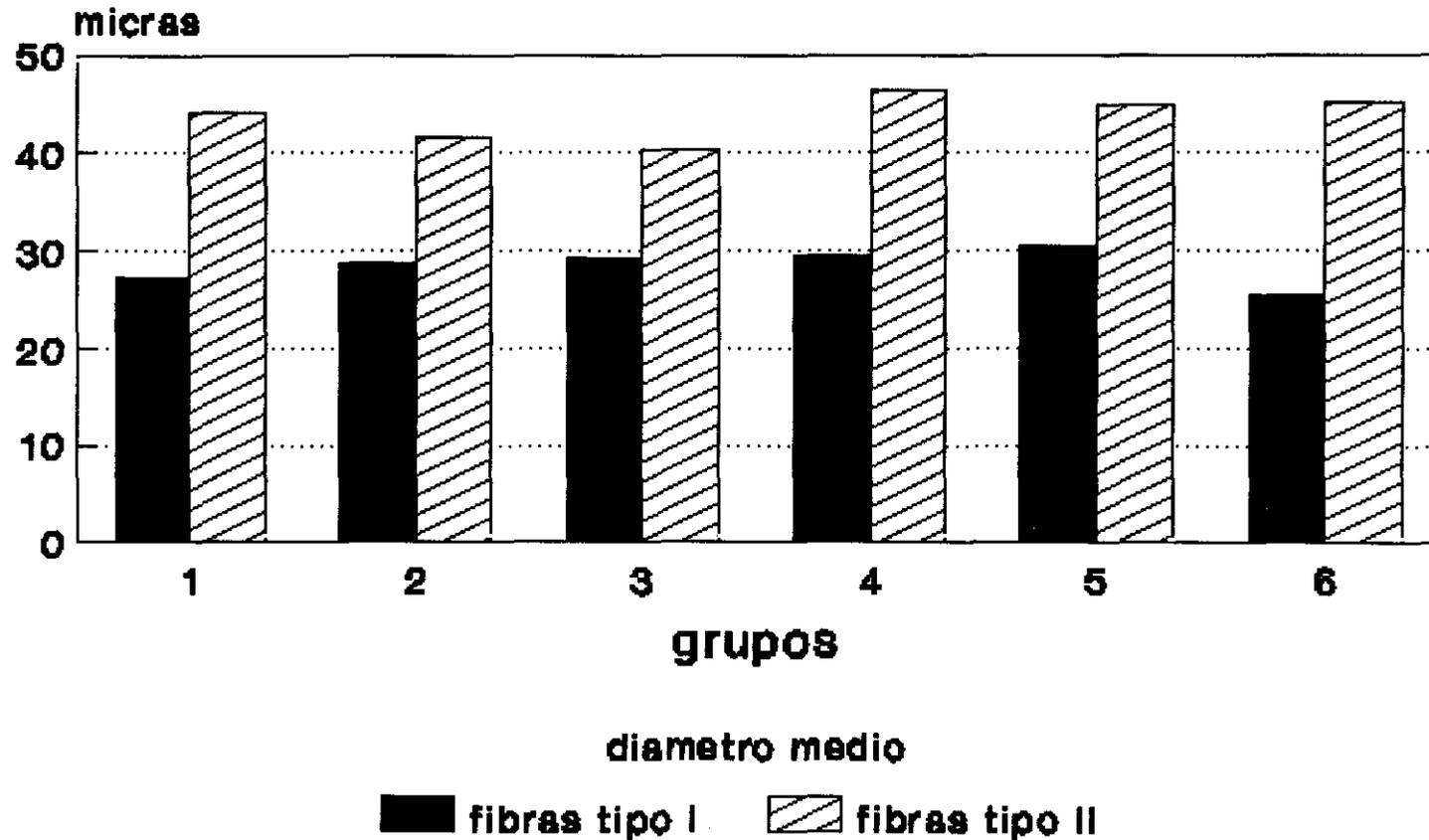


morfometría óptica músculo sóleo



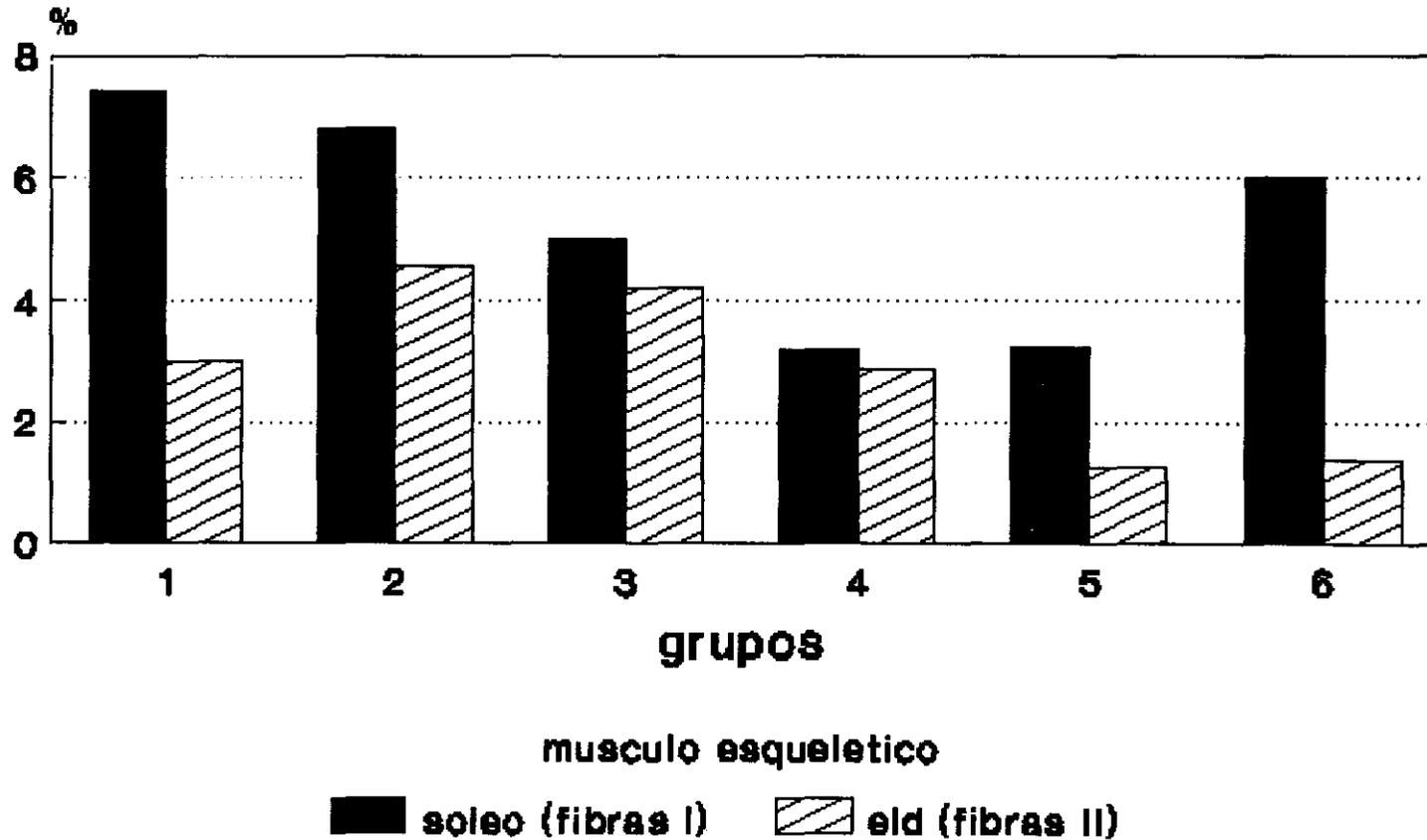
morfometria optica

musculo eld



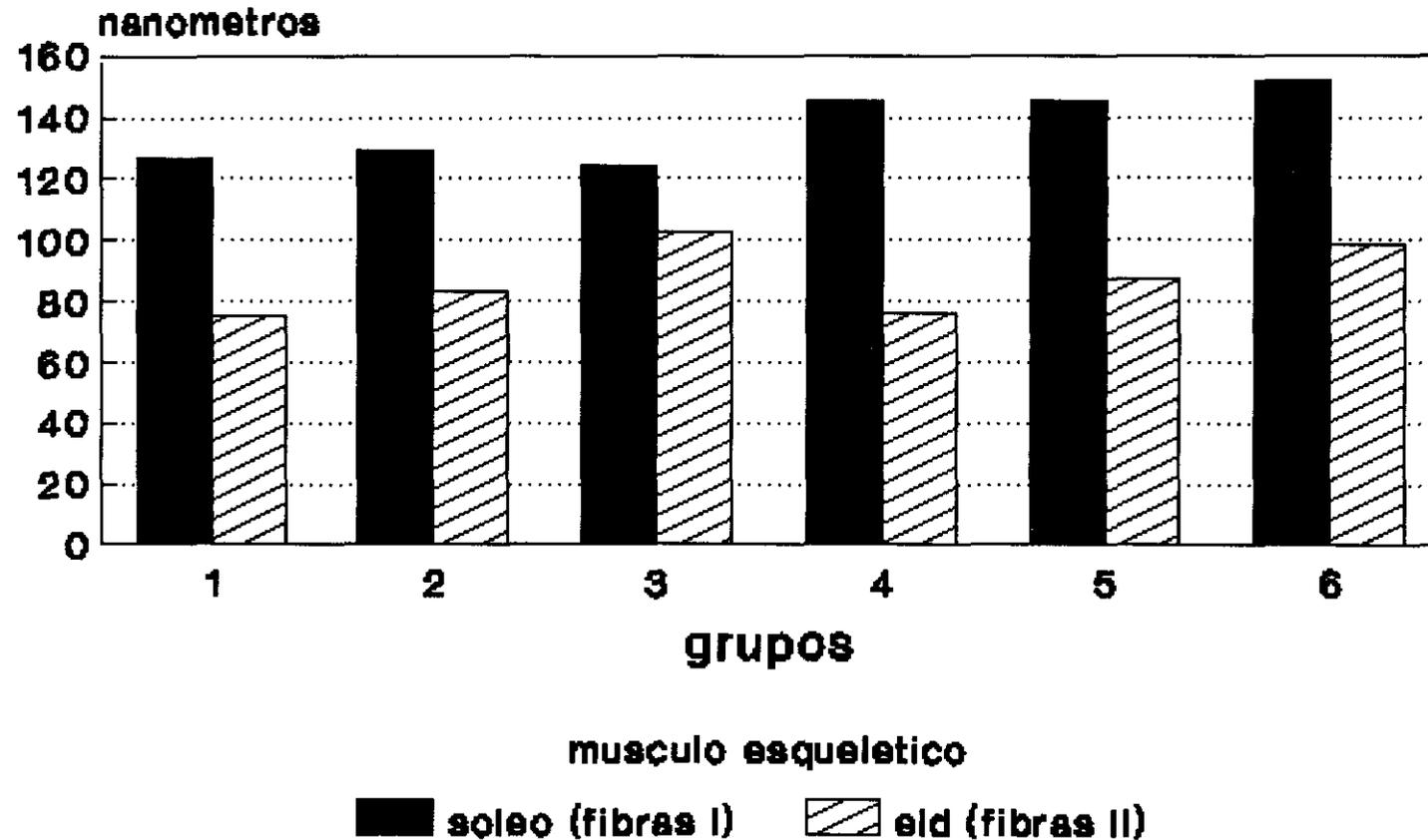
morfometria ultraestructural

densidad de volumen mitocondrial



morfometria ultraestructural

anchura de la banda z



RESUMEN

En el ser humano y en animales de experimentación se ha señalado que el ácido valproico produce disminución de las concentraciones de carnitina libre en plasma y en diversos tejidos, y que este efecto tiene un carácter dependiente de la dosis. Asimismo, se ha propuesto que estos efectos pueden ser revertidos por la administración de carnitina exógena.

Debido a que la deficiencia de carnitina de cualquier causa puede producir clínicamente crisis de insuficiencia hepática aguda de tipo Reye y cuadros de miopatía lipídica, procesos que se traducen morfológicamente al menos por el incremento de material lipídico en distintos tejidos, se ha desarrollado un modelo experimental sobre rata Wistar para conocer los efectos bioquímicos y/o morfológicos producidos en plasma, hígado y músculo esquelético por la administración de ácido valproico, así como las modificaciones introducidas en estos efectos por la administración de carnitina exógena a los animales tratados con ácido valproico.

Se establecieron seis grupos de estudio, cada uno con cinco animales. Uno de los grupos no recibió ninguna medicación y sirvió de control. Dos de los grupos recibieron únicamente ácido valproico, a dosis de 15 mg/día y 25 mg/día por vía oral, respectivamente. Otros dos grupos recibieron estas mismas dosis de ácido valproico más 10 mg/día de l-carnitina por vía intramuscular. Por último, el sexto grupo recibió únicamente l-carnitina, a una dosis de 10 mg/día por vía intramuscular.

La fase experimental tuvo una duración de 90 días.

Los resultados más destacables obtenidos tras el estudio bioquímico y/o morfológico de las muestras de plasma, hígado, músculo esquelético y corazón han sido los siguientes:

1. El ácido valproico no ha producido crisis de insuficiencia hepática aguda de tipo Reye ni cuadros de miopatía lipídica.

2. Desde el punto de vista bioquímico, el ácido valproico ha disminuido la concentración de carnitina libre en plasma e hígado, sin modificar estos niveles en músculo. Por otra parte, en los tres compartimentos ha incrementado la concentración de acilcarnitina de cadena larga y el cociente acilcarnitina/carnitina libre, aunque sólo en plasma ha producido aumento del nivel de acilcarnitina de cadena corta. El ácido valproico no ha modificado las concentraciones de carnitina total en plasma, hígado ni músculo.

Con excepción de la acilcarnitina de cadena larga en hígado, las alteraciones bioquímicas secundarias al efecto del ácido valproico sobre el metabolismo de la carnitina han tenido un carácter dependiente de la dosis.

Todas las alteraciones bioquímicas producidas por el ácido valproico sobre las concentraciones de carnitina libre y acilcarnitina en plasma, hígado y músculo sólo han sido revertidas por la administración de carnitina exógena, excepto en lo relativo a la acilcarnitina de cadena corta en plasma.

3. Desde el punto de vista anatomopatológico con microscopía óptica, el ácido valproico no ha producido alteraciones relevantes ni depósito de material lipídico en hígado, corazón ni músculo esquelético. A nivel morfométrico, el ácido valproico ha dado lugar a un incremento en el diámetro de las fibras tipo I del músculo sóleo, efecto que ha sido independiente de la dosis y que ha desaparecido tras la administración de carnitina exógena.

4. Desde el punto de vista anatomopatológico con microscopía electrónica, el ácido valproico no ha producido alteraciones relevantes ni depósito de material lipídico en los músculos sóleo y extensor largo de los dedos. A nivel morfométrico, el ácido valproico ha dado lugar a un incremento de la densidad de volumen mitocondrial en el músculo extensor largo de los dedos (fibras tipo II), mientras que no ha modificado este parámetro en el músculo sóleo (fibras tipo I). El efecto sobre el músculo extensor largo de los dedos ha sido independiente de la dosis y ha sido revertido por la administración de carnitina exógena.

Las conclusiones más destacables del estudio se pueden resumir señalando que el ácido valproico produjo, con carácter dependiente de la dosis, una disminución significativa en los niveles de carnitina libre en plasma e hígado, sin modificar de forma importante estos niveles en el músculo sóleo; que estas alteraciones bioquímicas no se tradujeron morfológicamente en acumulación de material lipídico en hígado, músculo esquelético ni corazón, y que la administración de carnitina exógena

permitió revertir la mayor parte de los efectos que produjo el ácido valproico sobre el metabolismo de la carnitina.

ANEXO 1

I. Características del músculo esquelético en relación con el metabolismo lipídico

El metabolismo de los lípidos tiene una importancia decisiva para el funcionamiento adecuado de los sistemas musculares debido a que los lípidos constituyen el principal sustrato para la producción de energía tanto en reposo como durante la contracción. Además, los lípidos constituyen componentes esenciales de las estructuras de membrana celulares y subcelulares cuya integridad es esencial para el funcionamiento normal (Ontko JA, 1986).

El metabolismo celular de los lípidos está en íntima relación con el de los carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos, junto con minerales, vitaminas y otras muchas moléculas de bajo peso molecular, de forma que la modificación o alteración de cualquiera de los múltiples procesos implicados va a dar lugar a efectos secundarios a diferentes niveles. En este contexto, los cuerpos cetónicos (acetoacetato y beta-hidroxibutirato) son considerados como lípidos debido a que estos compuestos altamente energéticos constituyen el producto final de la oxidación de los ácidos grasos en el hígado y se introducen en la circulación para alcanzar los tejidos extrahepáticos donde son eficazmente utilizados (Ontko JA, 1986).

I.A. Composición lipídica del músculo

Aproximadamente, el músculo esquelético constituye el 42%

del peso del cuerpo humano, superando con mucho al segundo tejido en cuanto a peso, el tejido adiposo, que normalmente constituye un 18%.

La composición general del músculo esquelético incluye un 20% de proteínas, un 5% de lípidos, un 1% de carbohidratos, un 2% de otros constituyentes orgánicos e inorgánicos, y un 72% de agua.

El componente lipídico del músculo esquelético está representado por los lípidos neutros y por los fosfolípidos.

Los lípidos neutros en este órgano están constituidos por triglicéridos (80%), colesterol (15%) y una parte menor (5%) de diglicéridos, monoglicéridos y otros compuestos lipídicos. Únicamente el 10% del colesterol está en forma esterificada, mientras que la mayor parte (90%) lo está en forma libre. Los fosfolípidos se localizan predominantemente en las estructuras de membrana. Los principales fosfolípidos que se encuentran en el músculo esquelético son, por este orden, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y fosfatidilglicerol. También existen cantidades relativamente importantes de colina y etanolamina, mientras que son mucho menores las cantidades de fosfatidilserina, esfingomielina, lisofosfatidilcolina, ácido fosfatídico y fosfatidilglicerol. Los ácidos grasos más abundantes en los fosfolípidos del músculo esquelético son palmítico, esteárico, oléico, linoléico y araquidónico. No obstante, son los ácidos grasos de los triglicéridos (palmítico, oléico y linoléico) los que mejor reflejan la composición plasmática de ácidos grasos libres (FFA) así como el contenido de ácidos grasos de la

dieta, que representan los precursores del contenido intracelular de FFA en el músculo esquelético.

I.B. Captación de lípidos por el músculo esquelético

Las moléculas procedentes del plasma se introducen en las células musculares atravesando las propias células endoteliales o bien filtrándose a través de los poros que existen entre estas células y difundiendo hasta el líquido intersticial que rodea a las fibras musculares. Los lípidos, que son muy solubles en la bicapa de las estructuras de membrana, utilizan preferentemente la primera vía mientras que las moléculas hidrosolubles de bajo peso molecular, como los cuerpos cetónicos, utilizan principalmente la segunda. Parece claro que la célula endotelial participa activamente en el transporte de los FFA al interior de las células musculares, teniendo en cuenta la afinidad de los mismos por las membranas bicapa, su escasa hidrosolubilidad y su rápida desaparición de la circulación (Spector A, 1971).

Los lípidos atraviesan la membrana plasmática mediante 7 posibles mecanismos:

1. Difusión simple: Utilizada como mecanismo único por los ácidos grasos de cadenas media (6-10 C) y corta (2-4 C), y también por los cuerpos cetónicos. Los LCFA pueden atravesar la membrana plasmática mediante difusión aunque no como mecanismo único.

2. Transferencia por colisión: Mecanismo importante para la introducción del colesterol de las lipoproteínas (Miller KM et al, 1983).

3. Difusión lateral en las membranas: Utilizada por los LCFA (Scow RO, 1980).

4. Catálisis enzimática en la membrana plasmática con difusión de los productos de reacción: La reacción clásica es la hidrólisis que produce la lipoproteína lipasa sobre los triglicéridos de las lipoproteínas de densidad baja y muy baja, hidrólisis que da lugar a la liberación de FFA y glicerol. Los LCFA difunden posteriormente a través de la membrana plasmática muscular (Nilsson-Ehle P et al, 1980).

5. Transferencia mediada por receptor de un factor ligador unido a una proteína plasmática transportadora: Mecanismo utilizado por los LCFA unidos a albúmina (Weisiger R et al, 1981).

6. Fijación a receptor y endocitosis de macromoléculas: Mecanismo importante para las lipoproteínas de baja densidad y que permite la captación por el músculo de colesterol procedente del hígado (Goldstein JL et al, 1983).

7. Endocitosis inespecífica: Posiblemente es un mecanismo de muy poca operatividad en la captación intracelular de lípidos.

I.C. Metabolismo lipídico en el músculo

Los procesos básicos del metabolismo lipídico intracelular son (1) activación de los ácidos grasos y cuerpos cetónicos; (2) oxidación de los ácidos grasos y cuerpos cetónicos; (3) síntesis de triglicéridos, fosfolípidos y otros ésteres de ácidos grasos, y (4) hidrólisis de estos ésteres lipídicos.

La activación de los LCFA es imprescindible para el metabolismo de los ácidos grasos; los acil-CoA resultantes de esta activación sufren oxidación en la mitocondria y producen la energía necesaria para la contracción muscular. Los procesos intramitocondriales a este respecto son la beta-oxidación de los acil-CoA de ácidos grasos hacia acetil-CoA, la activación y conversión de los cuerpos cetónicos en acetil-CoA, y la combustión completa de los grupos acetilo en el ciclo del ácido cítrico de Krebs. La mayor parte de la energía celular procede de estos procesos metabólicos.

Por otra parte, las reacciones de esterificación dan lugar a la síntesis de triglicéridos, que son almacenados en forma de glóbulos lipídicos en el citosol, y de fosfolípidos de membrana. La proporción de FFA que es esterificada es mínima en comparación con la que sufre oxidación. No obstante, la esterificación de ácidos grasos es vital para la función energética celular y para la biogénesis de membranas. Por un lado, los triglicéridos actúan como reservorio de ácidos grasos que pueden ser utilizados en su momento para la producción de energía a través de la oxidación. Por otro, la síntesis de triglicéridos permite eliminar el exceso de FFA y de acil-CoA de cadena larga, compuestos que tienen caracter

tóxico cuando se acumulan. La síntesis de fosfolípidos, por su parte, es esencial para el mantenimiento de las estructuras de membrana celulares (Bell RM et al, 1981).

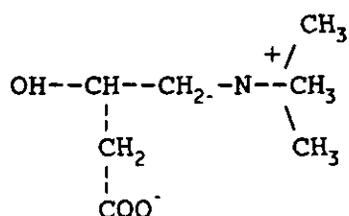
II. Carnitina

II.A. Características generales

El ácido 3-hidroxi-4-N-trimetil-aminobutírico (L-carnitina) es un cofactor esencial del metabolismo de los ácidos grasos que fué descubierto en el músculo esquelético en 1905 y cuya fórmula fué establecida en 1927. La acción que desempeña permaneció en el terreno de lo desconocido hasta que Fraenkel observó que la carnitina era acetilada enzimáticamente por el acetil-CoA, y Fritz demostró que la carnitina estimulaba la oxidación de los ácidos grasos por homogenados de hígado (citado por Engel AG, 1986b). Posteriormente se estableció que la carnitina actúa como transportador de grupos acilo-graso de cadena larga hacia el interior de la mitocondria donde sufren beta-oxidación.

En los tejidos humanos y de animales superiores, la carnitina se encuentra como isómero L metabólicamente activo, y procede de síntesis endógena y de aporte nutricional.

Su fórmula química estructural es la siguiente:



En España está comercializada como l-carnitina (Carnicor, Laboratorios Sigma-Tau) en forma de ampollas inyectables por vía intramuscular, solución al 30% y viables bebibles, recomendando el fabricante la administración de una dosis para el adulto de 1 a 5 g/día según la indicación.

La determinación de las distintas formas de carnitina (libre, esterificada y total) en plasma, tejidos y orina se realizó inicialmente mediante la técnica radiométrica enzimática descrita por Cederblad y Lindstedt en 1972 (Cederblad G et al, 1972), técnica que fué modificada posteriormente en 1976 (McGarry JD et al, 1976). Más tarde se introdujeron las técnicas de cromatografía en columnas y de espectrometría de masas (Bieber L et al, 1986). Muy recientemente se ha propuesto un método de tipo radio-enzimático para la determinación de l-carnitina y acilcarnitinas cuya sensibilidad alcanza los 10 $\mu\text{mol/L}$ utilizando 10 microlitros de plasma u orina, o bien una muestra tisular de 10 mg (De Sousa C et al, 1990).

II.B. Metabolismo de la carnitina

II.B.1. Síntesis endógena

La l-carnitina se sintetiza endógenamente a partir de la lisina y la metionina, a través de los productos intermedios epsilon-N-trimetil-lisina, beta-hidroxiepsilon-N-trimetil-lisina, gamma-trimetilaminobutiraldehído y gamma-butirobetaina o desoxicarnitina (Rebouche CJ et al, 1980a).

El proceso sintético se inicia con la metilación de la lisina unida a proteínas dando lugar a epsilon-N-trimetil-lisina. Las enzimas biosintéticas son citosólicas con excepción de la epsilon-N-trimetil-lisina hidroxilasa que es mitocondrial (Rebouche CJ et al, 1980b). En el ser humano, la reacción final del proceso sintético es la hidroxilación de la desoxicarnitina por la gamma-butirobetaina hidroxilasa, reacción que tiene lugar en hígado, riñón y cerebro pero no en músculo cardíaco ni esquelético (Rebouche CJ et al, 1980a). A diferencia del ser humano, en el riñón de la rata no existen las enzimas necesarias para la síntesis de carnitina a partir de N-trimetil-lisina (Guder WG et al, 1990).

Con respecto al resto de los tejidos, existe un mecanismo de transporte intertisular de los precursores de la carnitina de manera que, por ejemplo, la epsilon-N-trimetil-lisina liberada por el músculo (el órgano que posee mayor cantidad de este precursor de la carnitina) hacia el torrente sanguíneo es captada en su mayor parte por el riñón y convertida en gamma-butirobetaina y carnitina mediante actividad de beta-hidroxilasa, aunque parte de la desoxicarnitina sintetizada en el riñón es transportada al hígado y convertida en carnitina en este órgano. Por último, la carnitina sintetizada en estos órganos es enviada de nuevo al plasma de donde la captan los músculos mediante un proceso de difusión-intercambio con desoxicarnitina (Siliprandi N et al, 1989).

En el momento actual no existen datos precisos sobre las concentraciones de desoxicarnitina en los diferentes tejidos, sangre y orina, aunque recientemente se ha introducido un nuevo método que permite valorar

cantidades en picomoles (Noel H et al, 1984).

Para la actividad óptima de la epsilon-N-trimetil-lisina hidroxilasa y la gamma-butirotetaina hidroxilasa son importantes el ácido ascórbico, el Fe^{2+} , el O_2 y el ácido alfa-cetoglutarico (Lindstedt G et al, 1970). A su vez, la piridoxina es cofactor de la aldolasa que fragmenta la epsilon-N-trimetil-lisina en gamma-trimetil-aminobutiraldehído y glicina (Dunn WA et al, 1982), y en la rata se ha demostrado que es necesaria para la biosíntesis endógena de la carnitina (Cho YO et al, 1990). No obstante, al menos en la rata, la trimetil-lisina no parece ser imprescindible para la biosíntesis de carnitina (Davis AT, 1990).

En el ser humano, la síntesis de carnitina es de 100-200 $\mu\text{mol}/\text{día}$ (Engel AG et al, 1984).

En la rata y el ser humano no existen datos que indiquen la existencia de degradación intracelular de carnitina (Rebouche CJ et al, 1984a y b).

II.B.2. Aporte exógeno y farmacocinética

En relación al aporte exógeno de carnitina, los productos cárnicos, especialmente las carnes rojas, y los productos lácteos constituyen la principal fuente nutricional de l-carnitina (Rudman D et al, 1977). La dieta normal proporciona 300-400 $\mu\text{mol}/\text{día}$ de carnitina (Guarnieri G et al, 1987).

Aunque hasta el momento presente no se han establecido las contribuciones relativas de la síntesis endógena y el aporte exógeno en relación al mantenimiento de los

depósitos tisulares de carnitina, probablemente el aporte nutricional es importante en el lactante debido a que los niveles tisulares relativamente bajos de gamma-butirotetaina hidroxilasa que se observan de forma fisiológica durante esta fase de la vida limitan la biosíntesis endógena de carnitina (Rebouche CJ et al, 1980a).

En un estudio efectuado en 1986 en voluntarios sanos, se observó que existe una relación significativa entre la cantidad de carnitina ingerida y la concentración total de carnitina en plasma, mientras que no parece existir esta relación entre la carnitina de la dieta y la concentración de carnitina en músculo esquelético (Lennon DLF et al, 1986).

II.B.2.a. Absorción y biodisponibilidad

Tras la ingestión oral de l-carnitina exógena se produce su absorción en yeyuno e íleon mediante un mecanismo activo saturable dependiente de la bomba sodio-potasio y contra gradiente de concentración; también se absorbe en el colon, aunque en este caso a través de difusión pasiva (Hamilton JW et al, 1986). No obstante, recientemente se ha postulado por el mismo grupo de investigación la inexistencia de un mecanismo activo de transporte de la carnitina en la membrana del enterocito al observar únicamente difusión pasiva de la misma a través del borde en cepillo de las células yeyunales en la rata (Li BU et al, 1990). Además, parece que la difusión pasiva a través del componente lipídico de la barrera intestinal es más rápida para los ésteres de la carnitina (Marciani P et al, 1991).

Parte de la carnitina administrada por vía oral sufre degradación bacteriana en el sistema gastrointestinal y algunos de los productos de degradación son absorbidos y eliminados a través de orina y heces (Rebouche CJ et al, 1991).

La absorción intestinal de la l-carnitina y su aparición en sangre son procesos muy lentos, lo que ha sido explicado por el parecido estructural de la l-carnitina con los sustratos del transportador de aminoácidos, por su posible unión a membranas intracelulares, y por el hecho de que la mayor parte de la carnitina absorbida por el intestino se acumula en el hígado liberándose posteriormente de forma lenta hacia la circulación (Gudjonsson H et al, 1985).

El mismo mecanismo de captación activa contra gradiente de concentración y de carácter saturable observado en los enterocitos ha sido demostrado en otras muchas células y tejidos, incluyendo miocardio, músculo esquelético, fibroblastos, nefronas y hepatocitos (Shaw RD et al, 1983).

Este mecanismo activo puede ser útil para prevenir las pérdidas de carnitina en los estados de ayuno y también para la absorción de las dosis farmacológicas que se administran en los distintos estados de deficiencia de carnitina; además, tiene un denominador común en los distintos tejidos donde actúa: su actividad es óptima para concentraciones plasmáticas de carnitina de orden fisiológico (Herrera-Carranza J et al, 1989).

II.B.2.b. Distribución

El volumen de distribución aparente de la l-carnitina administrada por vía intravenosa es del 26% expresado como porcentaje del peso corporal (Cederblad G, 1984).

Existe una redistribución continua de la carnitina entre el plasma y los eritrocitos, de manera que el porcentaje aproximado de carnitina total en los hematíes es el $37 \pm 9\%$ del total de carnitina en la sangre (Borum PR, 1987). No obstante, la cantidad del precursor de la carnitina trimetil-lisina en los eritrocitos es en la rata 10 veces mayor que en el resto de los tejidos (Mizobuchi M et al, 1990).

La cantidad total de carnitina en un adulto de 70 kg de peso es aproximadamente de 100 mmol. El 98% de esta cantidad se localiza en el músculo esquelético y cardiaco, el 0,6% en el líquido extracelular y el 1,6% en los tejidos renal y hepático (Engel AG, 1986b).

Los niveles normales de carnitina libre y total en plasma, músculo esquelético e hígado en un adulto normal son los siguientes (Rebouche CJ et al, 1983):

	Carnitina libre	Carnitina total
Plasma (nmol/mL)		
Varón	46,8±10,0	59,3±11,9
Mujer	40,1± 9,5	51,5±11,6
Músculo esquelético (nmol/mg NCP)		
Varón	18,0±8,1	20,5±8,4
Mujer	17,3±5,3	20,1±5,3
Hígado (nmol/mg NCP)		
Varón y mujer	7,3	10,2

No obstante, los niveles de carnitina en plasma, tejidos y orina varían en relación con la edad, de manera que los valores más bajos los presentan los niños (Deufel T, 1990).

En la rata, los niveles circulantes de carnitina se correlacionan fuertemente con las concentraciones de carnitina en músculo esquelético y cardiaco, aunque únicamente para niveles de 26-69 μM y no para concentraciones superiores de carnitina en plasma. Por su parte, los niveles de carnitina en hígado y riñón sí

presentan una correlación mantenida con los plasmáticos para cualquier valor de estos últimos (Rebouche CJ, 1990).

De todas formas, los niveles plasmáticos y la distribución de la carnitina están influidos por diversos factores hormonales. Existe una relación inversa entre la concentración de estradiol y la concentración plasmática de carnitina sin que se modifiquen los niveles de esta última en los eritrocitos (Borum PR, 1980). Se ha demostrado que la insulina y el glucagón influyen en los niveles plasmáticos de carnitina debido a que, para niveles adecuados de glucagón, se produce un incremento en la retención de carnitina por parte del hígado mientras que la insulina invierte este efecto aumentando la concentración plasmática de carnitina (Kispal G et al, 1987).

Por su parte, los glucocorticoides también influyen sobre la distribución de la carnitina de manera que incrementan las concentraciones intracelulares de la misma, debido probablemente a que aumentan el número de transportadores de la carnitina a nivel de la membrana citoplásmica (Molstad P et al, 1979).

La vida media de la l-carnitina observada en voluntarios sanos y en pacientes con coronariopatía oscila entre 2 y 15 horas tras la administración de una dosis única oral o intravenosa de 0.5-2 g de l-carnitina (Cederblad G, 1984).

II.B.2.c. Metabolismo y eliminación

Como ya hemos señalado, la carnitina no es metabolizada a nivel intracelular por lo que se elimina en forma de carnitina libre y de ésteres de la carnitina a través de la orina y las heces (<1%). En el estado fisiológico, el umbral de excreción urinaria para ambas formas de carnitina está muy próximo al nivel sérico de carnitina (aproximadamente 50 μM), lo que sugiere que este umbral es el mecanismo que regula el nivel sérico de la carnitina (Engel AG et al, 1981). La eliminación de carnitina libre y esterificada está equilibrada de manera que existe una correlación negativa de carácter exponencial entre el cociente de ambas formas de carnitina en el suero y el observado en el aclaramiento urinario de las mismas (Ohtani Y et al, 1984). En adultos normales la cantidad diaria de carnitina total eliminada diariamente por orina oscila entre 100 y 400 μmol , dependiendo de la ingesta; la fracción de carnitina libre eliminada a través de orina en un adulto normal oscila entre $175 \pm 80,7 \mu\text{mol/día}$ y $172,3 \pm 23,4 \mu\text{mol/día}$ según el método utilizado, espectrofotométrico o radioquímico, respectivamente (Herrera-Carranza J et al, 1989).

Recientemente se ha demostrado en la rata la eliminación de carnitina libre y esterificada a través de la bilis, posiblemente menos del 1% de carnitina total al día (Hamilton JJ et al, 1987).

II.C. Mecanismo de acción

Las dos funciones principales de la l-carnitina son la transferencia de LCFA a través de la membrana interna

mitocondrial y la modulación del cociente CoA/acil-CoA a nivel intramitocondrial (Bremer J, 1983). Otra función importante de la carnitina en el metabolismo lipídico es la eliminación de residuos acil de cadena corta producidos en la mitocondria y de compuestos tóxicos exógenos como los ácidos benzóico, píválico y valproico (Siliprandi N et al, 1990).

Los LCFA constituyen el principal sustrato para la oxidación intramitocondrial en el músculo esquelético tanto en reposo como en ejercicio. La mayor parte de los LCFA que se introducen en la fibra muscular sufren oxidación en la matriz mitocondrial aunque una pequeña de los mismos es esterificada produciéndose triglicéridos y lípidos estructurales (Rahkila P et al, 1980).

La mitocondria constituye auténticamente la "planta" de producción energética de la célula. A este respecto, su función básica es la de producir ATP para la contracción muscular y para otras funciones esenciales como el transporte iónico y los procesos de biosíntesis (Ontko JA, 1986).

La mitocondria presenta cuatro compartimentos bien diferenciados y caracterizados, es decir, la membrana externa, el espacio intermembrana, la membrana interna y la matriz.

La membrana externa es permeable para las moléculas de pequeño tamaño como los sustratos oxidables, nucleótidos como la coenzima A y el ATP, y otras pequeñas moléculas esenciales como la carnitina y diversos iones inorgánicos.

La acil-CoA sintetasa ha sido estudiada intensamente en el hígado, tanto en el retículo endoplásmico del hepatocito, en donde los acil-CoA producidos se destinan a la síntesis de triglicéridos y fosfolípidos, como en la membrana externa de las mitocondrias, donde los acil-CoA constituyen el sustrato para la formación de acilcarnitina. Se ha considerado razonable asumir que la acil-CoA sintetasa del retículo endoplásmico es idéntica a la de la membrana externa de la mitocondria (Tanaka T et al, 1979), y que esta enzima debe existir también en el músculo esquelético (Ontko JA, 1986).

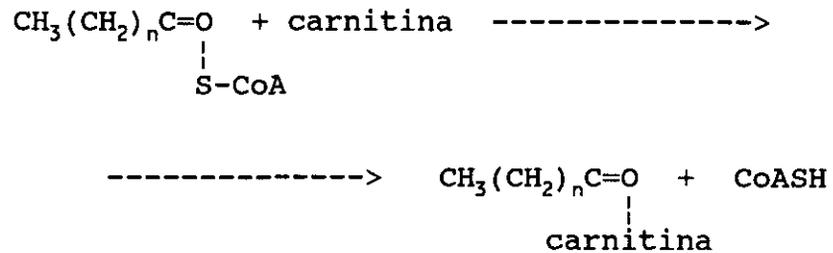
La acil-CoA sintetasa presenta especificidad en relación con la longitud de la cadena del ácido graso. La máxima actividad se obtiene con el ácido palmítico; en segundo lugar, y en orden descendente de actividad, se sitúan los ácidos grasos mirístico, laurico, palmitoleico, linolénico, oléico, decanoico, esteárico, araquidónico, linoléico y araquídico (Tanaka T et al, 1979).

II.C.2. Formación de acilcarnitina

La mitocondria posee tres aciltransferasas, las carnitina palmitoiltransferasas I y II (CPT I y II) y la carnitina acetiltransferasa (CAT).

La CPT I está situada en la superficie externa de la membrana interna mitocondrial y cataliza la conversión de acil-CoA en acilcarnitina utilizando una molécula de carnitina y desprendiendo CoA.

La reacción queda representada por la siguiente ecuación:



Los grupos de acilcarnitina quedan situados en el espacio intermembrana a la espera del siguiente paso.

La determinación de la especificidad de longitud de cadena en la CPT I es compleja debido a su inhibición por el sustrato, inhibición que es mayor a medida que se incrementa la longitud de la cadena carbonada del grupo acil. No obstante, la inhibición de la CPT I por el sustrato puede ser un mecanismo útil para impedir la transferencia excesiva de grupos acil al interior de la mitocondria cuando existe un aflujo elevado de FFA hacia la célula, evitando de esta forma el acúmulo de grupos acil-CoA de larga cadena en el interior de la matriz mitocondrial (Bremer J, 1983). Este tipo de acúmulo daría lugar a una disminución en la cantidad de CoA libre disponible para la beta-oxidación, la oxidación del piruvato y la formación de succinil-CoA, produciendo además un efecto inhibitor por su acción detergente (Bremer J, 1983).

La CPT I también es inhibida por el malonil-CoA (McGarry JD et al, 1978; Bremer J, 1990; Kashfi K et al, 1991), aunque en el músculo no se ha determinado la importancia de esta inhibición debido a que la síntesis de ácidos grasos es escasa en este órgano, a diferencia del hígado (McGarry JD et al, 1980).

Por otra parte, los esteroides anabolizantes estimulan la

CPT I en la rata (Guzman M et al, 1991).

II.C.3. Translocación de la acilcarnitina

La evidencia de que existe una translocasa específica que transporta la acilcarnitina a través de la membrana interna mitocondrial fué obtenida en 1975 (Pande SV, 1975; Ramsay RR et al, 1975).

La acilcarnitina producida por la acción de la CPT I y situada en el espacio intermembrana es transportada al interior de la matriz mitocondrial por acción de la acilcarnitina translocasa, intercambiandose por carnitina de la matriz. La afinidad de fijación de la translocasa es mayor para la acilcarnitina que para la carnitina libre. Su K_m disminuye a medida que aumenta la longitud de la cadena del grupo acil por lo que esta enzima transporta preferencialmente las acilcarnitinas de larga cadena (Pande SV et al, 1976).

Hasta el momento no existe evidencia de que la acetilcarnitina sea transportada por una translocasa diferente por lo que la acilarnitina translocasa también puede estar implicada en le eliminación de acetilcarnitina de la matriz mitocondrial en condiciones de aumento del nivel de acetil-CoA en la matriz.

II.C.4. Formación de grupos acil-CoA de cadena larga

Una vez en la matriz mitocondrial, la acilcarnitina de cadena larga es convertida en el correspondiente acil-CoA por la CPT II que se localiza en la supeficie interna

de la membrana interna de la mitocondria.

Todavía no ha sido establecido si las enzimas CPT I y CPT II constituyen la misma proteína o bien son diferentes proteínas. A este respecto se han obtenido datos contradictorios debido probablemente a que las proteínas de membrana son muy difícilmente aislables (Bergström JD et al, 1980). No obstante recientemente se ha señalado que, en cada tejido concreto, ambas enzimas son diferentes (McGarry JD et al, 1991).

II.C.5. Formación de acetil-carnitina

Parte del acetil-CoA que se introduce en el ciclo de Krebs procede del reservorio citosólico de grupos acetilo, que se introducen en la mitocondria en forma de acilcarnitina (Kispal G et al, 1991). La reacción está mediada por la CAT, un monómero de 60.5 kDa que presenta actividad máxima en presencia de propionil-CoA y para un pH de 8.7 (Bloisi W et al, 1990).

En resumen, la carnitina, junto con las carnitina aciltransferasas y la carnitina-acilcarnitina translocasa, desempeña un papel clave en la producción de energía en el músculo esquelético y otros órganos porque es imprescindible para que los LCFA, que constituyen con mucho el principal sustrato lipídico oxidable por la mitocondria, atraviesen la membrana interna mitocondrial y puedan alcanzar la matriz para introducirse en la secuencia de la beta-oxidación y generar acetil-CoA para su utilización en el ciclo del ácido cítrico con la consiguiente producción de ATP. En última instancia, la carnitina permite la regulación de la concentración de

CoA intramitocondrial y el control del cociente CoA/acil-CoA en el interior de la mitocondria (Engel AG, 1986b).

Existen otros dos mecanismos extramitocondriales para la oxidación de los ácidos grasos en los que no es necesaria la participación de la carnitina:

a. Los ácidos grasos de cadena muy larga son oxidados exclusivamente, al menos en sus fases iniciales, en los peroxisomas (Jakobs BS et al, 1991). Los peroxisomas pueden captar grupos acil-CoA de ácidos grasos de cadena muy larga (C₂₂ a C₂₆) produciendose la beta-oxidación de los mismos con formación de acetil-CoA.

La existencia de este mecanismo de oxidación en el músculo no ha sido establecida y, además, no se observa un cuadro de miopatía lipídica en las dos enfermedades en las que existe un trastorno de la oxidación peroxisomal de los ácidos grasos, es decir, el síndrome de Zellweger y la adrenoleucodistrofia (Moser AE et al, 1984). No obstante, a través de la carnitina octanoiltransferasa peroxisosomal, la carnitina puede desempeñar un papel en este mecanismo extramitocondrial de oxidación lipídica debido a que realiza la transferencia de grupos acil-ácido graso de cadena acortada por la beta-oxidación peroxisosomal desde el interior al exterior de los peroxisomas hepáticos, de manera que su oxidación pueda ser completada posteriormente por la mitocondria (Bremer J, 1983).

Recientemente, se ha sugerido que los peroxisomas oxidan los ácidos grasos de cadena media a través de un mecanismo independiente de la carnitina pero que la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga sí

requiere la participación de la misma (Buechler KF et al, 1990).

b. En el hígado, las enzimas microsomales catalizan la omega-hidroxilación de diversos ácidos grasos que son oxidados posteriormente hacia ácidos dicarboxílicos mediante enzimas solubles o microsomales (Björkhem I et al, 1970).

II.D. Síndromes por deficiencia de carnitina

Los síndromes por deficiencia de carnitina (SDC) se definen como las situaciones clínicas en las que el nivel intracelular de carnitina libre es insuficiente para que la carnitina pueda llevar a cabo sus dos principales funciones, es decir, el transporte de los LCFA a través de la membrana interna de la mitocondria y la modulación del cociente intramitocondrial CoA/acil-CoA (Engel AG, 1986b).

II.D.1. Mecanismos patogénicos de la deficiencia de carnitina en los SDC:

a. Degradación excesiva de carnitina: Como ya hemos señalado, no existe evidencia convincente del la degradación intracelular de la carnitina en personas sanas ni tampoco en pacientes con SDC.

b. Deficiencia nutricional de carnitina: Se acepta habitualmente que la deficiencia nutricional de carnitina, por sí misma, no da lugar a un SDC a menos que esté comprometido el metabolismo de la carnitina

por algún otro mecanismo, como la disminución de la biosíntesis hepática de carnitina en la cirrosis (Rudman D et al, 1977) o en el prematuro (por inmadurez hepática) (Schmidt-Sommerfeld E et al, 1982). No obstante, la administración de dietas hipocalóricas a pacientes obesos ha producido hipocarnitinemia (Davis AT et al, 1990).

c. Disminución de la biosíntesis de carnitina:

No es un mecanismo patogénico que haya sido claramente demostrado en pacientes con SDC, aunque ha sido propuesta en algunos casos la disminución en la síntesis de carnitina a partir de epsilon-N-trimetil-lisina (Coates PM et al, 1984).

d. Alteración en el control renal de la carnitina:

Aunque diversos pacientes pueden presentar pérdidas excesivas de carnitina por orina junto con algún otro trastorno del metabolismo de la carnitina, con excepción del síndrome de Fanconi renal (Netzloff ML et al, 1981), no se acepta que la eliminación excesiva de carnitina por orina, por sí misma, pueda ser causa de un SDC.

e. Eliminación excesiva de ésteres de carnitina de células y tejidos: La salida excesiva de ésteres de carnitina de células musculares y hepáticas constituye un importante mecanismo de depleción de carnitina en las acidurias orgánicas. Esta alteración se debe al acúmulo intramitocondrial de diferentes acil-CoA, lo que incrementa la formación de acilcarnitinas que salen de la mitocondria y la célula y son eliminadas por el riñón. Mientras que el aporte de carnitina libre es adecuado, los acil-CoA tóxicos son eliminados en forma de ésteres de carnitina, permaneciendo

constante el nivel de CoA y el cociente CoA/ acil-CoA intramitocondrial. No obstante, cuando se hacen insuficientes los mecanismos compensadores se acumulan los acil-CoA y se compromete todavía más el metabolismo energético porque la depleción de carnitina impide el transporte de LCFA al interior de la mitocondria para la beta-oxidación.

f. Alteración en el transporte activo de la carnitina en células y tejidos: Comentado previamente a propósito del primer caso descrito de SDC miopático (Treem WR et al, 1989; Stanley CA et al, 1991).

II.D.2. Formas clínicas de los SDC

II.D.2.a. SDC miopático

El primer SDC miopático fué identificado en 1973 cuando Engel y Angelini observaron que los homogenados de músculo esquelético de una paciente con debilidad muscular progresiva y miopatía lipídica oxidaban los LCFA con una lentitud excesiva, lentitud que se corregía al añadir carnitina (Engel AG et al, 1973). En estudios posteriores realizados en esta paciente se detectó una alteración en el mecanismo de transporte de la carnitina al interior del músculo esquelético (Rebouche CJ et al, 1984a). Desde entonces se han publicado más de un centenar de pacientes con esta forma restringida de SDC. Todos los pacientes presentan debilidad muscular, deficiencia de carnitina en el músculo esquelético y miopatía lipídica.

La miopatía lipídica se define a nivel anatomopatológico

por la presencia de un incremento en la cantidad de lípido que presenta el músculo, incremento que constituye la alteración morfológica predominante y que se puede observar claramente con microscopía óptica utilizando la tinción de Sudán Rojo para lípidos neutro. El acúmulo de lípido se correlaciona con la capacidad oxidativa de las fibras musculares, de forma que es más intenso en las fibras tipo I, menor en las de tipo IIA y escaso en las de tipo IIC. No se observan en las biopsias de estos pacientes fibras necróticas ni en regeneración a menos que se haya producido recientemente una crisis de mioglobinuria.

A nivel ultraestructural, los glóbulos lipídicos presentan un tamaño que oscila entre una y varias micras, no están revestidos por membrana y se acumulan en filas paralelas entre las miofibrillas o bien a nivel subsarcolemal. También con microscopía electrónica se pueden observar alteraciones mitocondriales consistentes en un incremento de su número o tamaño, presencia de inclusiones intramitocondriales y borramiento de crestas. A nivel bioquímico, los glóbulos lipídicos están compuestos predominantemente por triglicéridos.

La mayor parte de las miopatías lipídicas observadas hasta el momento se han asociado a un trastorno del metabolismo de la carnitina con la consiguiente alteración en la beta-oxidación de los ácidos grasos, aunque se han detectado algunos casos secundarios a alteraciones mitocondriales sin relación con la carnitina; cuadros de ictiosis congénita autosómica recesiva con depósito de lípido neutro en músculo esquelético y otros muchos órganos (enfermedad de Chanarin) cuya etiopatogenia es desconocida y no parece estar relacionada con una deficiencia de carnitina; casos de miopatía lipídica autosómico dominante sin

alteraciones en el metabolismo de la carnitina (Askanas V et al, 1985), y cuadros experimentales de miopatía lipídica tras la administración de aceite bromado (Brownell AKW et al, 1978).

Otras alteraciones clínicas que pueden presentar los pacientes con SDC miopático son incremento en los niveles plasmáticos de enzimas musculares (50%), cardiomiopatía (21%), crisis recidivantes de mioglobinuria (12%), debilidad y mialgias al realizar ejercicio (12%).

A nivel bioquímico, la mayor parte de estos pacientes presentan niveles normales de carnitina en suero y en hígado, y disminución de la carnitina en el músculo esquelético.

A este respecto, se ha descrito un cuadro de miopatía lipídica con deficiencia de carnitina en músculo esquelético asociada a cardiomiopatía hipertrófica de carácter familiar (Bautista J et al, 1990).

También se han observado casos de miopatía lipídica asociada a deficiencia de carnitina y a trastornos del metabolismo del glucógeno (Sugie H et al, 1988; Verity MA, 1991).

II.D.2.b. SDC sistémico

En 1975 se describió por primera vez un SDC de carácter sistémico (Karpati G et al, 1975) y desde entonces se han descrito en la literatura médica al menos una treintena de casos.

Clinicamente, las alteraciones más frecuentes son la aparición de crisis de tipo Reye (Sugiyama N et al, 1991) y la debilidad muscular.

Las crisis agudas del SDC sistémico cursan con estupor progresivo y coma, aumento en los niveles séricos de enzimas hepáticas, hepatomegalia, hipoglucemia, hipoprotrombinemia e hiperamonemia. Estos cuadros se producen en todos los SDC sistémicos asociados a acidurias orgánicas y también en deficiencias sistémicas de carnitina no asociadas a otros trastornos metabólicos, por lo que la deficiencia de carnitina puede, por sí misma, desencadenar este tipo de crisis metabólica.

Desde el punto de vista metabólico, la deficiencia de carnitina limita la entrada de LCFA en la mitocondria, lo que da lugar a una menor formación de acetil-CoA y de cuerpos cetónicos con disminución en la producción de energía. En esta situación, la célula incrementa la utilización de aminoácidos de cadena ramificada y de cuerpos cetónicos como fuentes de energía para aumentar la gluconeogénesis. De esta forma, aumenta la concentración intramitocondrial de acil-CoA y disminuye el cociente CoA/acil-CoA. En condiciones normales la carnitina mantiene este cociente en equilibrio, con niveles adecuados de CoA libre, formando ésteres acilcarnitina que son intercambiados por carnitina citosólica mediante el sistema de la carnitina-acilcarnitina translocasa. Los acil-CoA que se acumulan inhiben múltiples vías metabólicas y su perfil en orina nos permite conocer el punto del bloqueo metabólico (Stumpf DA et al, 1985).

A nivel anatomopatológico todos los pacientes presentan miopatía lipídica y, en las autopsias que se han

realizado, se han observado importantes acúmulos de lípido en músculo, hígado, corazón y riñón (Boudin G et al, 1976; Ware AJ et al, 1978).

Bioquímicamente, los pacientes presentan disminución de los niveles de carnitina en músculo esquelético, plasma, hígado y corazón.

II.D.2.c. Otras formas de SDC

A partir de 1981 se comenzaron a publicar en la literatura médica casos de SDC asociados a hemodialis crónica, caquexia, miopatías crónicas, kwashiorkor y otras situaciones clínicas que expondremos a continuación.

II.D.3. Formas etiopatogénicas de SDC

La clasificación más aceptada de los procesos que pueden cursar con un SDC es la siguiente:

- a. SDC secundario a defectos genéticos del metabolismo intermedio (Rebouche CJ, 1983)
 1. Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasas (acidurias orgánicas)
 - Deficiencia de acil-CoA de cadena larga deshidrogenasa
 - Deficiencia de acil-CoA de cadena media deshidrogenasa
 - Deficiencia de acil-CoA de cadena corta deshidrogenasa
 - Deficiencia de múltiples acil-CoA deshidrogenasas
 - Deficiencia de isovaleril-CoA deshidrogenasa
 2. Deficiencia de propionil-CoA carboxilasa
 3. Deficiencia de metilmalonil-CoA mutasa
 4. Deficiencia de beta-hidroxi-beta-metilglutárico liasa

5. Bloqueo de la cadena respiratoria mitocondrial a nivel de la NADH-ubiquinona reductasa
 6. Bloqueo de la cadena respiratoria mitocondrial a nivel de la succinato-citocromo c reductasa
 7. Deficiencia de citocromo c oxidasa
 8. Deficiencia de ATPasa mitocondrial
 9. Deficiencia de carnitina octanoiltransferasa
 10. Deficiencia de metilendetrahidrofolato reductasa
 11. Síndrome de Kearns-Sayre
- b. SDC secundario a otros procesos (modificado de Engel AG, 1986)
1. Síndrome de Reye idiopático
 2. Síndrome de Fanconi renal
 3. Insuficiencia renal crónica tratada con hemodiálisis
 4. Nutrición parenteral total en lactantes prematuros
 5. Kwashiorkor
 6. Miopatías crónicas de grado intenso
 7. Mixedema, hipopituitarismo e insuficiencia suprarrenal
 8. Embarazo
 9. Tratamiento con ácido valproico
 10. Tratamiento con benzoato sódico
 11. Tratamiento con pivampicilina
 12. Cirrosis con caquexia (Rudman D et al, 1977)

II.D.4. Diagnóstico y tratamiento de los SDC

Se debe sospechar un SDC, miopático o sistémico, en cualquier paciente que presente una miopatía lipídica. Además, se debe descartar este diagnóstico en un paciente

que presente cardiomiopatía hipertrófica con ondas T picudas en derivaciones precordiales, crisis agudas recidivantes de tipo síndrome de Reye o bien un diagnóstico establecido de aciduria orgánica (Brandt NJ, 1984).

Para el diagnóstico de un SDC es esencial la medición precisa de los niveles de carnitina total y de acilcarnitinas en tejidos y líquidos tisulares.

Con respecto al tratamiento, a nivel teórico el tratamiento sustitutivo con carnitina debería ser eficaz en todos los casos de SDC. No obstante, las respuestas clínicas y tisulares frente a la administración de carnitina son divergentes debido a la importante heterogeneidad clínica y bioquímica de los SDC.

De todas formas, en todos los casos de deficiencia de carnitina se debe evitar el ayuno, administrar comidas frecuentes con elevado contenido en carbohidratos y bajo contenido en grasa, y administrar carnitina.

Las crisis agudas se deben tratar por vía intravenosa para corregir o prevenir la hipoglucemia con una dosis inicial de 100 mg/kg de l-carnitina seguida de 25 mg/kg cada 4 a 6 horas (Stumpf DA et al, 1985). El tratamiento de mantenimiento consiste en 100 mg/kg/día para lactantes y niños, y 2 a 4 g/día para adultos.

La mayor parte de los pacientes con SDC de cualquier tipo y secundario a cualquier trastorno mejoran clínica y bioquímicamente al ser tratados con l-carnitina (Avigan J et al, 1983; Matsuishi T et al, 1985; Di Donato S et al, 1984b; Chapoy PF et al, 1980; Tripp ME et al, 1981; Angelini C et al, 1978; Angelini C et al, 1976; Scarlato G et al, 1977; Prockop LD et al, 1983; Karpati G et al,

1975; Bautista J et al, 1990).

Hasta el momento no se han observado efectos secundarios importantes por el tratamiento con l-carnitina.

II.E. Utilización clínica y experimental de la carnitina exógena, sus derivados y precursores

II.E.1. En los SDC (Goa Kl et al, 1987)

II.E.1.a. Defectos genéticos del metabolismo intermedio:

En los pacientes con acidurias orgánicas como la propiónica, metilmalónica e isovalérica, el acúmulo de acil-CoA de cadena corta en el interior de las mitocondrias da lugar a un cuadro clínico de debilidad e incoordinación muscular junto con retraso del crecimiento (Roe CR et al, 1984). Las concentraciones de carnitina libre y de acilcarnitina de cadena corta aparecen disminuidas en el plasma y la orina de estos pacientes (Di Donato S et al, 1984a), por lo que la l-carnitina exógena puede disminuir la cantidad de acil-CoA intramitocondrial al activar la CAT y permitir la salida de acilcarnitina de la mitocondria.

La administración de l-carnitina a estos pacientes ha permitido incrementar las fracciones de acilcarnitina de cadena corta en plasma y orina con mejoría clínica significativa (Chalmers RA et al, 1984; Di Donato S et al, 1984a; Roe CR et al, 1983; Roe CR et al, 1984; Pintos-Morell G et al, 1990; Mori T et al, 1990; Matsuishi T et al, 1985; Bernsen PL et al, 1991), aunque no en todos los casos (Carroll JE et al, 1980; Seccombe DW et al, 1982; Seccombe DW et al, 1986).

II.E.1.b. Hemodiálisis

En los pacientes con insuficiencia renal crónica sometidos a diálisis intermitente prolongada se observa una disminución del 30%-90% de las concentraciones séricas de carnitina, con respecto a los controles, debido tanto a la disminución en la síntesis de carnitina por parte del riñón como a la pérdida de carnitina en el líquido de dializado (Rodríguez-Segade S et al, 1986).

En el músculo esquelético de pacientes dializados, incluso pacientes con concentraciones plasmáticas de carnitina normales, se han detectado bajos niveles de la misma relacionados con síntomas de tipo calambres y astenia (Bohmer T et al, 1978). Por otra parte, la hiperlipoproteinemia e hipertrigliceridemia que presentan estos pacientes puede estar en relación con la hipocarnitinemia, dado el papel que desempeña la carnitina en el metabolismo de los ácidos grasos en los tejidos (Borum PR et al, 1986).

La administración oral o IV de l-carnitina a estos pacientes eleva las concentraciones musculares de carnitina hasta niveles normales o superiores a los normales con atenuación importante de la sintomatología de tipo muscular e incremento de la actividad electromiográfica (Vacha GM et al, 1985). No obstante, otros investigadores no han observado signos objetivos de mejoría en la fuerza, resistencia o actividad metabólica del músculo, ni tampoco en la velocidad de conducción nerviosa, en pacientes en hemodiálisis tratados con l-carnitina (2 g/día, durante 6 semanas), a pesar del aumento del 60% en la concentración muscular de carnitina (Fagher B et al, 1985).

De todas formas, aunque parece demostrado el valor de la l-carnitina para la normalización de la homeostasis de la carnitina en los pacientes sometidos a diálisis (Siami G et al, 1991), se ha llamado la atención para no utilizar dosis excesivas, recomendándose la utilización de 15 mg/kg/día (Wanner C et al, 1990).

Con respecto a la hipertrigliceridemia, en diversos estudios se ha observado la disminución en los niveles de triglicéridos en los pacientes hemodializados tratados con l-carnitina (Vacha GM et al, 1983), aunque en otros no se han detectado variaciones y en otros se han observado incluso aumentos en los niveles de triglicéridos (Weschler A et al, 1984).

En los niños sometidos a diálisis peritoneal ambulatoria no se ha observado deficiencia de carnitina, y la administración de l-carnitina no ha dado lugar a la resolución de la hipertrigliceridemia (Warady BA et al, 1990).

Otro aspecto terapéutico de la l-carnitina exógena en los pacientes urémicos sometidos a hemodiálisis crónica se refiere al incremento en el hematócrito, entre el 23% y el 37%, lo que ha sido atribuido al aumento en la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa que eliminaría el acúmulo de ésteres acilcarnitina de cadena larga en el interior del eritrocito (Bellinghieri G et al, 1983). Algunos autores han observado una correlación positiva entre los niveles séricos de carnitina y la respuesta a la eritropoyetina recombinante humana en pacientes con anemia secundaria a nefropatía terminal (Kooistra MP et al, 1991).

II.E.1.c. Nutrición parenteral total

Durante la nutrición parenteral total intravenosa a recién nacidos prematuros y a enfermos graves o malnutridos se ha observado una importante disminución en los niveles de carnitina en plasma y orina (Schmidt-Sommerfeldt E et al, 1983).

Durante la vida intrauterina el feto presenta un incremento progresivo en sus depósitos de carnitina a través de la madre; tras la interrupción de la unidad materno-fetal, el recién nacido prematuro depende exclusivamente del aporte exógeno de carnitina para mantener sus niveles normales debido a que su inmadurez hepática no le permite la biosíntesis adecuada de carnitina, por lo que se ha recomendado el aporte suplementario en estos casos (Dahlstrom KA et al, 1990). Al cabo de 2-3 semanas de permanecer ingresados en una UVI y con nutrición parenteral total, 19 pacientes presentaron una disminución del 30%-60% en los niveles de carnitina libre y total, niveles que volvieron rápidamente a la normalidad tan pronto como los pacientes reasumieron la alimentación oral (Schafer J et al, 1990). Esta hipocarnitinemia podría contribuir a la alteración del metabolismo graso que pueden presentar estos pacientes (Phillips GD et al, 1982).

En las deficiencias nutricionales de carnitina, el riñón puede conservar la carnitina libre y las acilcarnitinas de cadena corta, aunque existe una excreción renal obligatoria de otros ésteres de carnitina que contribuye a la hipocarnitinemia (Schmidt-Sommerfeldt E et al, 1990).

La adición de l-carnitina a las soluciones de nutrición

parenteral total facilita el metabolismo lipídico al aumentar la utilización de la emulsión lipídica y de la grasa endógena, así como la conservación de las proteínas corporales (Tao RC et al, 1980).

II.E.1.d. Tratamiento con benzoato sódico

Los pacientes con trastorno primario del metabolismo del amoniaco tratados con benzoato sódico presentan hipocarnitinemia que revierte tras la administración de carnitina (Michalak A et al, 1990; Sakuma T, 1991).

II.E.1.e. Tratamiento con pivampicilina

Los antibióticos que contienen ácido pivalínico producen deficiencia de carnitina (Melegh B et al, 1990b).

II.E.1.f. Cirrosis hepática

Aunque en literatura médica se ha aceptado que la cirrosis hepática, independientemente de su etiología, produce deficiencia de carnitina (Rudman D et al, 1977; Engel AG, 1986b), se ha publicado recientemente un estudio sobre las concentraciones de carnitina libre, ésteres de carnitina y carnitina total en plasma de 167 alcohólicos crónicos utilizando como control un grupo de 49 voluntarios sanos; en este estudio se demuestra que los pacientes cirróticos presentan niveles de carnitina libre y de ésteres de carnitina significativamente superiores a los de las personas normales, mientras que los alcohólicos no cirróticos muestran hipocarnitinemia

con frecuencia (Alonso-de-la-Pena C et al, 1990). Estos datos han sido refrendados en un estudio posterior (Amodio P et al, 1990).

No obstante, la administración de carnitina previene la toxicidad aguda por amoniaco (Ohtsuka Y et al, 1991) y aumenta la eliminación del mismo en forma de urea y glutamina, atenuando además los efectos tóxicos del amoniaco mediados por peroxidación lipídica, de manera que se ha propuesto su utilización en el tratamiento de los síndromes hiperamoniémicos (O'Connor JE et al, 1991) como la propia cirrosis hepática o los trastornos del ciclo de la urea como la deficiencia de ornitina transcarbamilasa (Mayatepek E et al, 1991) o la deficiencia de carbamil-fosfato sintetasa (Sakuma T, 1991).

De esta forma, la administración de l-carnitina a pacientes cirróticos da lugar a la obtención de mejores resultados en la prueba de tolerancia al amoniaco y en las pruebas psicométricas, lo que ha hecho que se proponga su evaluación como tratamiento de la encefalopatía establecida (Del Olmo JA et al, 1991).

II.E.1.g. Fenilcetonuria

En la fenilcetonuria se han identificado varios casos de hipocarnitinemia que ha sido atribuida a la deficiencia de hierro, que constituye un cofactor esencial para la síntesis de carnitina, y también a la deficiencia de carnitina en la dieta hipoproteica estricta que siguen estos pacientes, recomendándose la inclusión de carnitina exógena en estas dietas (Bohles H et al, 1991).

II.E.2. En otros procesos y contextos

II.E.2.a. Cardiotoxicidad inducida por antraciclinas

En animales de experimentación, la l-carnitina protege a las células cardíacas frente a los efectos tóxicos de la doxorubicina (adriamicina) (De Leonardis V et al, 1985). La doxorubicina inhibe diversas fases del metabolismo cardíaco, como la captación de oxígeno, la concentración de ATP y la síntesis proteica. El resultado es que, para dosis acumulativas superiores a los 500 mg/m² aparecen con frecuencia cuadros de cardiomiopatía congestiva tardía. En diversos estudios con pacientes se ha observado que la l-carnitina disminuye las concentraciones enzimáticas de CK-MB y mejora diversos parámetros de la actividad cardíaca (Neri B et al, 1983).

II.E.2.b. Ejercicio físico

La utilización de suplementos de l-carnitina por parte de atletas se ha hecho muy popular durante los últimos años incluso aunque no existen hasta el momento resultados inequívocos en el ser humano que apoyen esta actitud (Cerretelli P et al, 1990).

En un estudio experimental con rata realizando ejercicio físico efectuado en 1987 se observó que las ratas entrenadas presentaban disminución de los niveles plasmáticos de carnitina libre e incremento de los de SCAC (Ji LL et al, 1987).

Teóricamente, la administración de l-carnitina podría incrementar el metabolismo lipídico en el músculo en

ejercicio permitiendo un ahorro de glucógeno y, en consecuencia, un mayor rendimiento físico; además, podría contribuir a la homeostasis de la carnitina libre y esterificada en plasma y músculo, teniendo en cuenta que durante la realización de esfuerzos importantes y repetitivos podrían disminuir los niveles de estos compuestos.

En uno de los pocos estudios realizados a este respecto, la administración de 4 g/día de l-carnitina ha producido un incremento de la potencia aerobia máxima (VO_{2max}) en corredores de fondo (Angelini C et al, 1986).

Para ejercicios de intensidad máxima, la administración de l-carnitina incrementa la captación máxima de oxígeno al favorecer los procesos aeróbicos, dando lugar a un mayor rendimiento (Vecchiet L et al, 1990).

Por otra parte, esta misma dosis ha dado lugar a un aumento estadísticamente significativo en la distancia recorrida sobre cinta rodante por pacientes con claudicación intermitente (Brevetti G et al, 1986).

En un estudio experimental realizado con rata en ejercicio, la administración de l-carnitina incremento la oxidación de ácidos grasos aunque no disminuyó la cantidad de glucógeno metabolizado durante el ejercicio físico (Decombaz JE et al, 1990). En otro estudio en el que se utilizó el mismo modelo experimental, la administración de l-carnitina no incrementó la capacidad de ejercicio de los animales ni tampoco la glucogenolisis muscular o hepática; además, la hipocarnitinemia inducida por la administración de d-carnitina no produjo efectos sobre el metabolismo energético durante el ejercicio hasta que no se alcanzó el rango de SDC (<20 $m\mu\text{mol/L}$) (Simi B et al, 1990).

La administración de 2 g de l-carnitina por vía oral antes del inicio de una sesión de ejercicio máximo por

parte de personas moderadamente entrenadas da lugar a disminuciones importantes en los niveles plasmáticos de lactato y piruvato con incremento en los de acetilcarnitina, probablemente por estimulación de la piruvato deshidrogenasa, lo que hace que el piruvato se dirija hacia la formación de acetilcarnitina y no de lactato (Siliprandi N et al, 1990).

En el perro, la administración de \perp -carnitina incrementa la fuerza muscular del dorsal ancho en un 34%, lo que es atribuido a una facilitación de la oxidación de los ácidos grasos en las células endoteliales (Dubelaar ML et al, 1991).

Recientemente, Arenas y colaboradores han observado que los atletas entrenados pueden presentar disminución en los niveles de carnitina libre tanto en plasma como en músculo esquelético, efecto que parece deberse al incremento en las pérdidas de acilcarnitina de cadena corta por orina, y que puede revertirse por la administración de \perp -carnitina exógena (Arenas J et al, 1991).

II.E.2.c. Hiperlipidemia

La \perp -carnitina a una dosis de 3-4 g/día permite disminuir de forma significativa las concentraciones séricas de colesterol total y/o triglicéridos, aumentando las de HDL-colesterol (Rossi CS et al, 1982). Este patrón de modificación del perfil lipídico ha sido observado también en alcohólicos (Adamo S et al, 1986).

II.E.2.d. Cardiopatía isquémica

La observación de que la concentración de l-carnitina libre en las áreas infartadas de pacientes fallecidos por infarto de miocardio es muy inferior a la observada en el tejido cardiaco de pacientes fallecidos por otras causas ha sugerido la posibilidad de que la l-carnitina pueda desempeñar algún papel en la limitación de la zona de necrosis (Spagnoli LG et al, 1982; Goa KL et al, 1987).

La l-carnitina tiene un efecto protector sobre el miocardio isquémico y reperfundido al impedir la acción del Pi como depresor de la fosforilización oxidativa y como inhibidor de la actividad de la translocasa ADP/ATP (Duan JM et al, 1990).

En el corazón, los ácidos grasos constituyen el sustrato primario de la energía utilizada por el músculo cardiaco. La inhibición del transporte de ATP secundaria al acúmulo de acil-CoA de cadena larga disminuye el rendimiento energético y, además, la inhibición de la pirúvico deshidrogenasa puede dar lugar a una mayor producción de ácido láctico que parece contribuir a la isquemia. Ambos efectos pueden ser revertidos por la l-carnitina (Liedtke AJ, 1987).

Se ha observado también que el miocardio de los pacientes con insuficiencia cardiaca avanzada sometidos a trasplante de corazón presenta una disminución importante en los niveles de carnitina libre y total, mientras que en el plasma de estos pacientes existe hipercarnitinemia (Regitz et al, 1990).

Se ha comprobado el efecto beneficioso de la l-carnitina en pacientes con angina de pecho (Kamikawa T et al, 1984), infarto de miocardio (Chiarello M et al, 1986) y

arritmia asociada a procesos isquémicos.

Por su parte, las acilcarnitinas de cadena larga como la palmitoilcarnitina han demostrado a nivel experimental que pueden producir un efecto vasodilatador de intensidad comparable a la de otros vasodilatadores aplicados en clínica humana, aunque con una mayor duración del efecto (Criddle DN et al, 1990).

Por otra parte, la propionilcarnitina demuestra a nivel experimental un efecto protector sobre las células endoteliales de corazón y vasos de la lesión de peroxidación que se produce durante la isquemia y reperfusión debido a que disminuye la producción de productos reactivos de oxidación por parte de las membranas endoteliales (Bertelli A et al, 1991; Carbonin PU et al, 1991), quizá en relación con su propiedad para disminuir el nivel citoplásmico de calcio en las células endoteliales (van Hinsbergh VW et al, 1991); se ha propuesto a este respecto que el efecto protector de la propionilcarnitina frente a la isquemia se debe a que estimula el ciclo de los ácidos tricarbónicos a través de la síntesis de succinato (Siliprandi N et al, 1991); la propionilcarnitina también protege a nivel experimental de la toxicidad producida por oxígeno hiperbárico (Bertelli A et al, 1991).

En ratas diabéticas se ha comprobado un efecto protector de la l-carnitina sobre la lesión miocárdica producida por este proceso (Rodrigues B et al, 1990).

Para un estudio global de los efectos beneficiosos de la l-carnitina en los trastornos cardiovasculares véase la revisión de Pepine (Pepine CJ, 1990).

II.E.2.e. Potenciador de la absorción nasal

En la rata, la palmitoil-dl-carnitina ha sido utilizada con éxito para incrementar la absorción nasal de hormona de crecimiento biosintética humana debido probablemente a un mecanismo de fluidificación de membranas o a un efecto vasodilatador (O'Hagan DT et al, 1990).

II.E.2.f. Cicatrización de úlceras en piernas

Efecto observado en tres casos (Harrell HL Jr, 1990).

II.E.2.g. Aumento del surfactante pulmonar

En la rata, la administración de l-carnitina a la madre gestante estimula de forma significativa la síntesis de fosfolípidos en los neumocitos tipo II del pulmón fetal, incrementándose de esta forma el contenido de dipalmitoil-fosfatidilcolina (la principal fracción fosfocolínica del surfactante) en este órgano (Lohninger A et al, 1990).

En el modelo de trasplante pulmonar en el perro, la l-carnitina también incrementa de forma significativa el contenido de dipalmitoil-fosfatidilcolina en el lavado brocoalveolar mejorando la función del pulmón injertado, lo que se ha atribuido a un amortiguamiento del efecto isquémico sobre el metabolismo de los neumocitos tipo II (Klepetko W et al, 1990)

II.E.2.h. Efecto trófico sobre el músculo esquelético

La administración de 2 g/día de l-carnitina por vía IV durante 12 meses a pacientes en hemodiálisis crónica ha producido un importante incremento en los niveles de carnitina en plasma y músculo además de hipertrofia y predominio de fibras tipo I, sin modificaciones en las fibras tipo II; los autores de este estudio utilizan parámetros morfométricos y sugieren que la l-carnitina presenta un efecto trófico específico sobre las fibras musculares de tipo I caracterizadas por su metabolismo oxidativo (Spagnoli LG et al, 1990).

II.E.2.i. Efecto protector frente a la toxicidad por MPTP

La adición de l-carnitina a cultivos de hepatocitos tratados con 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) impide la depleción celular de ATP producida por este compuesto tóxico, probablemente porque su toxicidad está mediada por alteraciones en el metabolismo de los ácidos grasos (Snyder JW et al, 1990).

II.E.2.j. l-acetilcarnitina

En el contexto clínico-experimental, el derivado de la carnitina que ha sido estudiado con mayor intensidad en los últimos años es la l-acetilcarnitina.

La l-acetilcarnitina es un precursor de la acetilcolina porque los grupos acetil-CoA citoplásmicos constituyen el sustrato de la colina acetiltransferasa, lo que explica la utilidad de la l-acetilcarnitina en los déficit colinérgicos (White HL et al, 1990).

La acetilcarnitina facilita la liberación de acetilcolina por receptores muscarínicos M3 en el hipocampo de la rata, receptores implicados en el proceso de envejecimiento (Imperato A et al, 1991).

La l-aceticarnitina incrementa la cantidad de RNA mensajero para la subunidad I de la citocromo-oxidasa estimulando de esta forma la trascripción mitocondrial (Gadaleta MN et al, 1990).

Este éster de la carnitina ha sido utilizado con buenos resultados:

- En la depresión y el síndrome cerebral orgánico del anciano (Sinforiani E et al, 1990; Bella R et al, 1991),

-En el tratamiento de los déficit cognitivos que produce el alcoholismo crónico (Tempesta E et al, 1990),

-En la demencia de tipo Alzheimer especialmente por su efecto beneficioso sobre las alteraciones de la memoria reciente,

-En la demencia que acompaña a la enfermedad de Huntington (Goety CG et al, 1990),

-En la potenciación de los efectos regenerativos del nervio ciático tras su sección y reparación (Fernandez E et al, 1990),

-En los déficit cognitivos asociados al envejecimiento en ratas (Markowska AL et al, 1990; Blokland A et al, 1990) debido probablemente a que la l-acetilcarnitina normaliza el incremento en los niveles de colesterol libre y

esterificado que presenta la rata de edad avanzada (Ruggiero FM et al, 1990) o bien porque disminuye la formación de lipofuscina en el cerebro (Maccari F et al, 1990); también en la rata, la l-acetilcarnitina aumenta la longevidad neuronal (Fariello RG, 1990) y posee actividad plástica sobre sinapsis interneuronales GABAérgicas (Laschi R et al, 1990).

- En los patrones de sueño nocturno en la enfermedad de Parkinson (Puca FM et al, 1990),

- En los tiempos de reacción de los pacientes con insuficiencia cerebrovascular (Arrigo A et al, 1990) debido probablemente a que incrementa el flujo sanguíneo cerebral (Postiglione A et al, 1990),

- Potenciando la inhibición recurrente de los pacientes con paraparesia espástica (Mazzocchio R et al, 1990),

-En el shock circulatorio de origen séptico, cardiaco o traumático por su capacidad para reestablecer la actividad enzimática inhibida por la hipoxia actuando como donante de grupos acetilo (Gasparetto A et al, 1991),

-En las disfunciones retinianas con vulnerabilidad selectiva para las frecuencias espaciales de tipo medio-alto debido a su efecto excitador sobre la transmisión colinérgica (Falsini B et al, 1991),

-En la reinervación muscular tras denervación (Pettorossi VE et al, 1991),

-En primates, la acetil-l-carnitina impide la aparición

de parkinsonismo y de las alteraciones típicas de la deficiencia dopaminérgica en animales tratados con MPTP, posiblemente debido a su efecto sobre la respiración mitocondrial (Bodis-Wollner I et al, 1991).

II.E.2.k. Embarazo y lactancia

Se ha observado deficiencia de carnitina en el embarazo (Scholte HR et al, 1978), y algunos autores sugieren que la carnitina es un nutriente realmente esencial en situaciones de requerimientos energéticos especiales como el embarazo y la lactancia (Giovannini M et al, 1991).

II.E.2.l. Butirobetaína

La butirobetaína o desoxicarnitina es un precursor de la carnitina en la síntesis endógena de ésta, a través de la butirobetaína hidroxilasa. En la rata, la administración exógena de butirobetaína produce el mismo incremento en los niveles de l-carnitina que la administración de l-carnitina, por lo que se debe considerar como agente terapéutico potencial en los casos en los que sea necesario el aporte suplementario de carnitina (Sandor A, 1991).

II.E.2.m. Síndrome óculo-cerebro-renal de Lowe

En el síndrome óculo-cerebro-renal de Lowe se produce un deterioro glomerular renal progresivo acompañado de disfunción tubular precoz que da lugar a pérdidas importantes de carnitina que requieren la administración

exógena de la misma (Charnas LR et al, 1991).

II.E.2.n. Efecto trófico sobre el hígado

En ratas Wistar parcialmente hepatectomizadas, la l-carnitina produce un efecto estimulante y dependiente de la dosis sobre la regeneración hepática (Blaha V et al, 1990).

II.F. Toxicidad y efectos colaterales

La l-carnitina se tolera muy bien y no presenta prácticamente toxicidad. Para dosis muy elevadas, hasta 15 g/día, se han observado casos esporádicos de episodios diarreicos (Snyder TM et al, 1982). Las dosis más habituales de 2 g/día por vía oral pueden dar lugar a gastralgia, náuseas y diarrea en un 2%-6% de pacientes. La administración de dl-carnitina a pacientes urémicos ha dado lugar a cuadros de tipo miastenia gravis, lo que no se ha observado nunca en los tratamientos con l-carnitina, y que se ha atribuido al acúmulo del isómero d de la carnitina en los pacientes con insuficiencia renal, acúmulo que podría dar lugar a un bloqueo de tipo hemicolínico (Bazzato G et al, 1981).

No se ha observado toxicidad discernible por l-carnitina ni siquiera tras la administración de dosis elevadas por vía IV para el tratamiento de cuadros de acidurias orgánicas (Roe CR et al, 1990).

III. Acido valproico

III.A. Características generales

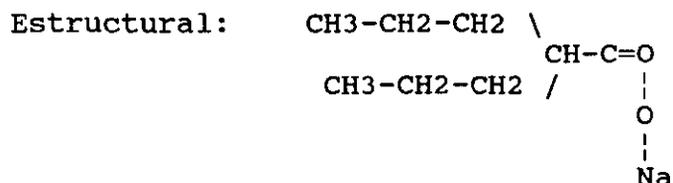
El ácido 2-propilpentanoico (ácido valproico, VPA) es un fármaco antiepiléptico que fue sintetizado por primera vez por Burton en 1881.

Sus propiedades anticonvulsivantes fueron descubiertas de forma casual en 1962 cuando Meunier, utilizando ácido valproico como disolvente orgánico de medicamentos cumarínicos, observó que los animales inyectados quedaban protegidos de las crisis convulsivas que desencadena el pentametilentetrazol.

Su estructura química difiere de la de cualquier otro fármaco antiepiléptico conocido. Es un ácido graso de cadena corta, abierta y ramificada que carece de grupos heterocíclicos aromáticos y que no presenta en su estructura ningún átomo de nitrógeno.

En España se comercializa en forma de propilpentanoato sódico (valproato de sodio, Depakine, Labaz) que es la sal sódica del ácido valproico y cuyas fórmulas son:

Empírica: C₈ H₁₅ O₂ Na



En su forma física, el valproato sódico es un polvo blanco, inodoro, higroscópico, microcristalino y con un sabor ligeramente picante. Muy soluble en agua y alcoholes como metanol y etanol, y escasamente soluble en disolventes orgánicos menos polares. Su peso molecular es de 166,2 y su pKa de 4,95.

En EE.UU. se comercializa en forma de sodio-hidrógeno bis(2-propilpentanoato) (divalproex sódico, Depakote, Abbott), que es un compuesto estable formado por valproato sódico y ácido valproico en relación 1:1 molar, y que tiene un peso molecular de 310,41.

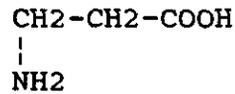
III.B. Mecanismo de acción

Entre los mecanismos de acción posibles de los fármacos anticonvulsivos se incluyen la facilitación de la acción inhibitoria sináptica, la debilitación de la transmisión excitadora y la disminución de la tendencia de las neuronas a excitarse en ráfagas.

La acción del ácido valproico como medicación antiepiléptica parece estar mediada por el incremento que produce en los niveles de ácido γ -aminobutírico (GABA) a nivel cerebral.

El GABA es un aminoácido no proteico (amina biógena), producto de la descarboxilación del ácido glutámico, que existe normalmente en concentraciones elevadas en el cerebro y que actúa como neurotransmisor para neuronas inhibitorias y como bloqueante de sinapsis.

Su fórmula estructural es:



Además, el GABA se encuentra intercalado en una ruta secundaria del ciclo del citrato: en el cerebro, prácticamente todo el ácido alfa-cetoglutarico se transforma en ácido glutámico que es descarboxilado a GABA, que posteriormente sufre transaminación hacia

hemialdehído succinico siendo este, a su vez, oxidado a ácido succinico que se reintroduce en el ciclo de Krebs.

Aunque de forma predominante en el sistema límbico (Nagaki S et al, 1990), el VPA incrementa los niveles de GABA en diversas regiones del sistema nervioso central (SNC) a través de la:

- Activación de la glutámico descarboxilasa (Schmutz M et al, 1979)
- Inhibición de la alfa-cetoglutarato deshidrogenasa, lo que incrementa el aporte de alfa-cetoglutarato hacia la formación de GABA inhibiendo el ciclo del ácido cítrico (Luder et al, 1990).
- Activación de la glutaminasa, lo que incrementa la disponibilidad de ácido glutámico al ser ésta la enzima que cataliza la hidrólisis de la glutamina en ácido glutámico y NH_4^+ (Martin et al, 1990).

Además, el VPA potencia la acción del GABA mediante:

- Inhibición de la recaptación de GABA hacia el extremo presináptico (Nilsson et al, 1990)
- Inhibición de su degradación: Inhibe la GABA-transaminasa y la succinilsemialdehido deshidrogenasa (Schmutz et al, 1979).
- Potenciación de los efectos postsinápticos del GABA actuando sobre los locus receptores postsinápticos u otras estructuras de membrana con el fin de mimetizar o favorecer la acción inhibitoria del GABA (Chapman et al, 1982).

Otros mecanismos de acción del VPA en relación con su actividad anticonvulsiva son (Chapman et al, 1982):

- Incremento en la duración de los potenciales de acción postsinápticos inhibitorios y disminución de la excitación repetitiva inducida por las corrientes de despolarización producidas por N-metil-D-aspartato (Zeise et al, 1991).
- Disminución del ácido aspártico en el cerebro (Castro-Gago M et al, 1990).
- Acción sobre otros aminoácidos excitadores y sobre el metabolismo monoamino.
- Disminución de la conductancia de los canales de potasio con incremento del umbral del potencial de acción y, por tanto, prevención de las despolarizaciones excesivas del nervio

durante las crisis (van Erp et al, 1990).

- Disminución de las corrientes de entrada del sodio en neuronas del neocortex (Zona C et al, 1990).
- Disminución selectiva de la corriente de calcio de bajo umbral (Kelly et al, 1990).
- Disminución de los niveles de somatostatina en SNC (Nagaki S et al, 1990).
- Acumulación de valprooil-CoA (2-propilpentanoil-CoA, un metabolito del VPA identificado previamente en el hígado) en el SNC, metabolito que contribuiría a la actividad antiepiléptica del VPA estimulando la actividad de la Na⁺, K⁺-ATPasa cuando la concentración cerebral de ATP es baja (Friel P, 1990).

Al igual que en lo relativo a otros fármacos anticonvulsivantes que incrementan la transmisión GABAérgica, se ha supuesto que la sustancia negra podría constituir en lugar de acción del VPA, aunque se ha demostrado que la destrucción de este núcleo pigmentado no disminuye los efectos anticonvulsivantes del VPA en ratas estimuladas (Wahnschaffe U et al, 1990). No obstante, se ha sugerido que el VPA produce efectos inhibitorios específicamente en neocortex cerebral y en hipocampo (Kubota T et al, 1990). Además, mediante autorradiografía, se ha observado el depósito prácticamente selectivo de VPA marcado con ¹⁴C en las porciones medial y dorsal (fundamentalmente en la capa glomerular) del bulbo olfatorio de la rata (Hoepfner TJ,

1990).

III.C. Farmacocinética

III.C.1. Absorción y biodisponibilidad

El VPA es rápidamente absorbido a través del tracto gastrointestinal. La rapidez de la absorción es menor en las formulaciones recubiertas no entéricas que en el caso de los comprimidos no recubiertos o el jarabe, formulaciones estas últimas que no dependen del índice del vaciado gástrico. En cualquier caso, la absorción del valproato sódico (VPS) es prácticamente completa, con una biodisponibilidad próxima al 100% (Levy RH et al, 1980). No obstante, en un estudio sobre farmacocinética del VPA tras administración de dosis única en personas sanas se ha observado que la biodisponibilidad de los comprimidos con cubierta entérica es significativamente menor (del 52%) (Bano G et al, 1990). Recientemente, se han observado también características de absorción y biodisponibilidad muy adecuadas al administrar una nueva formulación de divalproex sódico en forma de partículas con cubierta entérica (Depakote Sprinkle, Abbott Laboratories, North Chicago, IL) (Carrigan PJ et al, 1990).

Independientemente de la formulación utilizada, la administración de VPS junto con alimentos retrasa su absorción debido a que en esta situación se modifica el entorno de pH óptimo para su desintegración y disolución (Chun AHC et al, 1980).

III.C.2. Distribución y fijación a proteínas

Una vez absorbido, el VPA se une parcialmente a proteínas mientras que otra parte circula en forma libre.

Unicamente se metaboliza la forma libre, de manera que probablemente los efectos antiepilépticos y tóxicos del VPA están en relación con la concentración de la fracción libre del mismo (Scheyer RD et al, 1990). Por esta razón, para el ajuste de dosis en pacientes se prefiere utilizar el cociente nivel plasmático libre de VPA/dosis al cociente nivel plasmático total de VPA/dosis (Abadin JA et al, 1991).

Existe una fuerte correlación positiva entre la dosis de VPA (mg/kg/día) y los niveles séricos total y libre de VPA hasta el límite de 15 mg/kg/día, a partir del cual ambos niveles de VPA no aumentan proporcionalmente a la dosis administrada (Ieiri I et al, 1990). El porcentaje de fracción libre para concentraciones totales elevadas presenta una amplia variabilidad inter e intra individual (Cramer JA et al, 1986; Jager-Roman E et al, 1982). Otros factores que influyen en las concentraciones total y libre de VPA en plasma son la concentración de albúmina, el nivel de transaminasa glutámico oxalacética y la administración simultánea de carbamacepina o fenitoína que disminuyen el cociente nivel/dosis del VPA (Ieiri I et al, 1990).

El VPS se fija abundantemente a proteínas plasmáticas, principalmente albúmina, de una forma no lineal a dosis farmacológicas (Semmes RL et al, 1990). P a r a concentraciones plasmáticas totales de VPA de 40-100 mg/L, el grado de fijación a proteínas oscila

habitualmente entre el 85% y el 94% en personas con funciones hepática y renal normales que no están recibiendo ninguna otra medicación (Loscher W, 1978).

La fijación del VPA a proteínas plasmáticas depende de la concentración plasmática de las mismas y de la dosis de VPA administrada, y presenta también variaciones circadianas debido a las fluctuaciones en los niveles de ácidos grasos libres dado que estos tienen la capacidad de desplazar al valproato de sus puntos de fijación (Bowdle TA et al, 1982). En este sentido, se ha propuesto que la obesidad que se observa en algunos casos como complicación del tratamiento con VPS podría ser debida al incremento en los niveles de ácidos grasos de cadena larga, incremento secundario a la fijación competitiva del VPS con las proteínas plasmáticas (Brodersen R et al, 1990).

También disminuye la fijación a proteínas en ciertos estados fisiológicos como el envejecimiento (Bauer LA et al, 1985), la época neonatal (Gal P et al, 1988), y el embarazo (Nau H et al, 1986); y en algunos estados patológicos como la insuficiencia renal (Orr JM et al, 1983), la hemodiálisis (Bruni J et al, 1980), la insuficiencia hepática (Klotz U et al, 1978 y la diabetes mellitus (Gatti G et al, 1987). La disminución del porcentaje de VPA unido a proteínas en estos estados fisiológicos y patológicos hace que en todos ellos se incremente de forma proporcional el nivel de valproato libre con la consiguiente posibilidad de toxicidad. Por ello, se recomienda en estos pacientes la monitorización del cociente nivel de valproato libre/ dosis.

El volumen aparente de distribución del VPS, determinado

en relación con la concentración total en plasma, es de 0,1-0,41 L/Kg (Hall K et al, 1988) lo que constituye un pequeño volumen de distribución de 8 a 10 L y sugiere que la distribución del fármaco está restringida a la circulación sistémica y al medio acuoso extracelular intercambiable rápidamente; esta posibilidad está en consonancia con las propiedades fisicoquímicas del valproato ($pK_a=4,95$).

Como ocurre con los fármacos cuya biodisponibilidad oral es prácticamente completa, el volumen de distribución al administrar valproato por vía intravenosa es del mismo orden que por vía oral (Perucca E et al, 1978).

El volumen de distribución de la forma libre en plasma es de aproximadamente 1 L/Kg, mucho mayor que el obtenido en relación a la concentración total en plasma, lo que indica que debe existir fijación tisular (Gugler R et al, 1977).

El tejido donde se fija preferencialmente el valproato es el SNC, donde se han observado concentraciones del 6,8%-27,9% de los niveles plasmáticos totales ($p < 0,05$) en pacientes tratados desde 72 horas antes de una craneotomía (Vajda FJE et al, 1981). No obstante, en otro estudio no se observó correlación entre los niveles detectados en parénquima cerebral y los medidos en líquido cefalorraquídeo (LCR) y en plasma 180 minutos después de administrar una sola dosis de valproato antes de la craneotomía (Hanigan W et al, 1985).

Tras su administración por vía oral a pacientes neurológicos, los niveles de valproato en LCR son muy similares a los niveles de valproato libre en plasma

(Rapeport WG et al, 1983). En los tratamientos de mantenimiento en niños epilépticos se ha demostrado también una correlación significativa entre los niveles de VPS en LCR y los niveles de la forma libre del mismo en plasma, aunque en este caso los niveles en LCR son significativamente menores que los plasmáticos (forma libre), lo que sugiere un mecanismo asimétrico de transporte a través de la barrera hemato-encefálica (BHE) para el valproato (Loscher W et al, 1988). Se ha propuesto que el VPA atraviesa la BHE mediante un sistema transportador específico para ácidos monocarboxílicos situado en la BHE y dependiente del pH (Kang YS et al, 1990)

El VPS se excreta escasamente por la saliva debido a su bajo pKa, por lo que sus niveles en este medio no reflejan probablemente su concentración libre en plasma (Knott C et al, 1984). En el semen de voluntarios sanos, los niveles de VPS son bajos con relación a los niveles de la forma libre en plasma (Swanson BN et al, 1978). La concentración de VPS en la leche materna es baja, entre el 1% y el 10% de la concentración plasmática total de la madre (Alexander FW et al, 1979).

El VPS atraviesa la placenta humana. En las fases iniciales del embarazo los niveles totales de VPS en el feto son menores que los detectados en la madre, debido a que el grado de fijación a proteínas es mucho menor en el primero que en la segunda (Nau H et al, 1984). En el momento del nacimiento, los niveles séricos de VPS en el cordón umbilical son superiores a los observados en la sangre de la madre, lo que se atribuye al incremento de las concentraciones séricas maternas de ácidos grasos en el momento del nacimiento, lo que da como resultado un

desplazamiento parcial del valproato de los puntos de fijación maternos; el mayor grado de fijación protéica en el feto en este momento favorece la transferencia placentaria adicional con acumulación del fármaco en el feto (Albani F et al, 1979).

En el ratón se ha propuesto que el VPA atraviesa la barrera placentaria debido a gradientes de pH (Srivastava M et al, 1991).

III.C.3. Eliminación

II.C.3.a. Aclaramiento plasmático

El aclaramiento plasmático total es el producto del flujo de sangre hepático y la proporción de extracción hepática. Para el valproato, la proporción de extracción hepática es baja, más baja incluso que la fracción libre, lo que indica que su aclaramiento plasmático es de tipo restrictivo limitándose únicamente a la fracción libre, y que este aclaramiento es independiente del flujo sanguíneo hepático (Klotz U et al, 1977).

En voluntarios sanos, el aclaramiento plasmático de valproato oscila entre 7 y 11 mL/hr/kg y, al igual que el volumen de distribución, es independiente de la vía de administración y mayor en niños que en adultos (Hall K et al, 1985; Levy RH et al, 1982).

II.C.3.b. Vida media de eliminación

La vida media de eliminación del valproato es de 8 a 20 horas, tanto en tratamientos crónicos como en estudios de dosis única, lo que sugiere que en el metabolismo del

valproato no se produce saturación ni autoinducción (Hall K et al, 1985). Recientemente se ha observado que, al menos en la rata, el VPA sí produce una autoinducción de su metabolismo en tratamientos crónicos (Fisher JE et al, 1991).

En neonatos y ancianos, la vida media de eliminación es más larga, mientras que la administración simultánea de fármacos antiepilépticos con capacidad de inducción enzimática está considerablemente disminuida (Cramer JA et al, 1986).

II.C.3.c. Aclaramiento renal

Dado que el valproato se metaboliza de forma casi completa en el hígado, su eliminación por orina en forma inalterada es muy pequeña, correspondiendo al 1.8% de la dosis oral única y al 3,2% de la dosis en situación de nivel estable (steady state) (Gugler R et al, 1977).

El aclaramiento renal de la forma libre de valproato es muy pequeño en comparación con la tasa de filtración glomerular, lo que sugiere que se reabsorbe de forma importante (Levy RH et al, 1982).

En cuanto a la eliminación renal de los metabolitos del valproato sódico, se ha observado en ratas la eliminación en la orina de las primeras 24 horas del 40-50% de la dosis única administrada, principalmente en forma de VPA conjugado y de productos de la omega-oxidación (5-OH-VPA, ácido 2-propil-glutárico); en tratamientos crónicos la eliminación renal de los metabolitos se aproxima al 75%, fundamentalmente en forma de productos de la glucuronidación y de la beta-oxidación del VPA (sin modificación o incluso disminución de los productos de la

omega-oxidación), lo que sugiere que, al menos en la rata, el VPA da lugar a una inducción de su propio metabolismo en tratamientos prolongados (Fisher JE et al, 1991).

En pacientes con insuficiencia renal se observa un aumento del volumen de distribución y del aclaramiento plasmático total, posiblemente como resultado de la menor fijación a proteínas con el consiguiente incremento en la proporción de valproato libre (Robson RH et al, 1980; Orr JM et al, 1983).

Se ha observado una buena correlación entre el porcentaje de valproato libre y el nivel de creatinina en suero, el aclaramiento de creatinina, el nivel de nitrógeno y ácido úrico en sangre en pacientes con insuficiencia renal no sometidos a diálisis (Gugler R et al, 1978). No obstante, no parece existir esta correlación con el nivel total de proteínas ni con la concentración de albúmina en plasma. La disminución de la unión a proteínas en estos casos no parece estar en relación con la concentración total de éstas sino con el posible incremento en los niveles de inhibidores endógenos de la fijación observados en pacientes con insuficiencia renal (Bruni J et al, 1980).

La hemodiálisis disminuye de forma más importante la fijación a proteínas debido a que la heparina administrada durante la misma activa la lipoproteín-lipasa, produciendo como resultado un importante incremento de ácidos grasos libres en suero, ácidos grasos que compiten con el valproato por los puntos de fijación a la albúmina (Bruni J et al, 1980). De todas formas, ni la diálisis peritoneal ni la hemodiálisis dan lugar a una eliminación significativa de valproato para concentraciones plasmáticas terapéuticas del mismo

(Marbury TC et al, 1980; Kandrotas RJ et al, 1990) aunque para concentraciones muy elevadas (p. ej., en casos de sobredosis) con niveles muy altos de la forma libre, la hemodiálisis permite una eliminación importante de valproato (Pedersen B, 1982; Roodhooft AM et al, 1990).

II.C.4. Metabolismo

A pesar de la sencillez de su molécula, el valproato tiene un metabolismo complejo y, como ya hemos comentado previamente, unicamente es eliminado en forma inalterada por orina el 1%-3% de la dosis administrada (Gugler R et al, 1977).

Se metaboliza casi completamente en el hígado a través de cuatro vías principales:

- Glucuronidación
- Beta-oxidación
- Omega-oxidación
- Omegal-oxidación

La beta-oxidación mitocondrial del VPA incluye su transformación en 2-propilpentanoil-CoA (valproil-CoA), que es deshidrogenado a 2-propil-2-pentenoil-CoA por la 2-metil-cadena ramificada acil-CoA deshidrogenasa, e hidratado a 3-OH-2-propilpentanoil-CoA por la enoil-CoA hidratasa (Li J et al, 1991).

Con respecto a las acil-CoA deshidrogenasas, en la actualidad se conocen 5 tipos distintos, las acil-CoA deshidrogenasas de cadenas corta, media y larga, la

isovaleril-CoA deshidrogenasa y la 2-metil-cadena ramificada acil-CoA deshidrogenasa. El valproil-CoA es deshidrogenado unicamente por la última de ellas (Ito M et al, 1990).

Las oxidaciones omega1 y omega se realizan en los microsomas y dan lugar en primer lugar a la aparición de metabolitos insaturados (ácidos 2-propil-3-pentanoico y 3-propil-4-pentanoico, respectivamente), que posteriormente son hidroxilados a ácido 2-propil-4-hidroxipentanoico y ácido 2-propil-5-hidroxipentanoico, respectivamente (Pollack GM et al, 1986).

Para dosis muy bajas, la vía metabólica principal para el valproato es la beta-oxidación mitocondrial (Granneman GR et al, 1984). Para dosis mayores aumenta la proporción de fármaco metabolizada a través de omega- y omega1-oxidación microsomal, y para las dosis del rango terapéutico la vía metabólica principal es la glucuronización (Chapman A et al, 1982), de manera que en la orina de las primeras 24 horas se elimina en forma de glucurónido el 70% de la dosis administrada (Gugler R et al, 1980).

En relación a las proporciones relativas de oxidación mitocondrial (beta) y microsomal (omega y omega1), se ha observado un patrón invertido en al menos un estudio experimental sobre rata en el que, tras la administración de 200 mg/kg/8 hr mediante inyección intraperitoneal durante 6 semanas, los autores detectan un incremento importante en la eliminación renal de metabolitos procedentes de la beta-oxidación con disminución relativa en la eliminación de los procedentes de las oxidaciones microsomales, lo que atribuyen a una autoinducción del

VPA sobre su propio metabolismo en tratamientos prolongados (Fisher JE et al, 1991).

El patrón de los metabolitos del valproato en suero en condiciones normales parece ser estable en tratamientos a largo plazo (Pedersen B et al, 1984), aunque puede estar influido por la edad (Shen DD et al, 1984) y la administración simultánea de otros fármacos que estimulan la oxidación microsomal del valproato (Chapman A et al, 1982).

Los metabolitos de todas las vías metabólicas del VPA presentan algún tipo de actividad antiepiléptica aunque, en base a la molaridad de los mismos, son menos potentes que el valproato (Loscher W et al, 1981). No obstante, los estudios efectuados en animales de experimentación utilizando 2-en VPA demuestran que este metabolito es más potente que el fármaco inicial cuando en los cálculos se toman en cuenta factores como la fijación a proteínas y la distribución tisular del VPA y el 2-en VPA, por lo que la actividad antiepiléptica de los metabolitos en tratamientos prolongados puede ser significativamente mayor que la calculada a partir de sus concentraciones en plasma (Loscher W et al, 1983; Keane PE et al, 1985).

Además, el 2-en VPA parece desempeñar un papel predominante en los cuadros de toxicidad neurológica por sobredosis de VPA (Dupuis RE et al, 1990). A pesar de ello, los niveles de metabolitos del valproato observados en el LCR de niños epilépticos tratados de forma crónica son muy bajos (Loscher W et al, 1988).

La farmacocinética de los metabolitos ha sido estudiada por Pollack GM et al (1986). Uno de los principales

metabolitos moninsaturados cerebrales con actividad farmacológica, el 2-en VPA, presenta características farmacocinéticas muy similares a las del fármaco original, VPA (Singh K et al, 1990). En términos generales, los metabolitos insaturados (2-en VPA, 3-en VPA, 4-en VPA) presentan una mayor fijación a proteínas que el VPA, posiblemente porque la presencia de un doble enlace en su esqueleto carbonado incrementa su afinidad por la albúmina. Por otra parte, las vidas medias de aclaramiento son más largas para todos los metabolitos en comparación con la que presenta el compuesto inicial, fundamentalmente los metabolitos no saturados, que se eliminan más lentamente que los hidroxilados (Pollack GM et al, 1986).

III.D. Utilización clínica

III.D.1. Como antiepiléptico

En la actualidad, se considera que el tratamiento inicial de la epilepsia debe efectuarse mediante monoterapia con algún agente antiepiléptico de primera línea como fenitoina, fenobarbital, primidona, carbamazepina, etosuximida, benzodiazepinas, acetazolamida o ácido valproico (Pugh CB et al, 1991).

El valproato fué utilizado inicialmente como tratamiento de apoyo en pacientes con cuadros epilépticos refractarios a otros fármacos (Simon D et al, 1975). Posteriormente, en distintas series de estudio sobre pacientes se ha demostrado que el valproato es muy efectivo en epilepsias generalizadas primarias, especialmente en ausencias y crisis miocónicas, y que, al

igual que otros antiepilépticos, es menos eficaz en las crisis parciales (Dulac O et al, 1984).

En 1988 lo estaban recibiendo más de 1.000.000 de pacientes en todo el mundo para el tratamiento de cuadros convulsivos (Binek J et al, 1991).

En los estudios comparativos de la monoterapia de valproato con la administración de otros fármacos antiepilépticos como clonazepam (Shakir RA et al, 1979), etosuximida (Sato S et al, 1982; Callaghan N et al, 1982), fenitoina (Wilder BJ et al, 1983) y carbamazepina (Loiseau P, 1984), el valproato ha presentado una eficacia al menos similar a la de los otros fármacos.

En un estudio efectuado en 1987 se concluye que el valproato es un agente monoterapéutico tan eficaz como la carbamazepina y la fenitoina en el tratamiento de las crisis generalizadas primarias y secundarias, y de las crisis parciales (Chadwick DW, 1987).

Numerosos autores señalan que en el control y el pronóstico de las crisis, y además del fármaco antiepiléptico utilizado, desempeñan un papel fundamental otros factores como son el tipo de crisis, la edad de comienzo del cuadro, la frecuencia de las crisis, la historia previa prolongada de crisis y la presencia de síntomas neurológicos o psiquiátricos asociados (Turnbull DM et al, 1985; Callaghan N et al, 1985).

En España, el laboratorio fabricante del valproato sódico recomienda la dosis de 30 mg/kg en neonatos, 20-30 mg/kg para adolescentes y adultos, y 15-20 mg/kg para alcanzar niveles plasmáticos suficientes (habitualmente, 40 mg/L

como límite mínimo) para conseguir actividad antiepiléptica.

El valproato tiene éxito habitualmente en los siguientes tipos específicos de crisis:

III.D.1.a. Crisis de ausencia

La monoterapia con valproato constituye un tratamiento de primera línea para todas las formas de crisis de ausencia, fundamentalmente las simples (petit mal) y las complejas; en las ausencias mioclónicas es más eficaz cuando se administra junto a etosuximida (Dulac O et al, 1984; Rowan AJ et al, 1983; Covanis A et al, 1982; Jeavons PM et al, 1977). También se ha utilizado en los estados de ausencia (Sander JW et al, 1990).

III.D.1.b. Crisis mioclónicas

Fundamentalmente la epilepsia mioclónica juvenil, en la que la monoterapia con valproato permite un control adecuado o total de las crisis mientras que los demás fármacos antiepilépticos son ineficaces (Chadwick DW, 1988; Clement MJ et al, 1988).

III.D.1.c. Crisis tónico-clónicas

El valproato en monoterapia controla un 70% de las crisis (Turnbull DM et al, 1985; Miller JW et al, 1990).

III.D.1.d. Epilepsia fotosensible:

La monoterapia con valproato permite conseguir un control adecuado en el 57% de los casos (Jeavons PM et al, 1986).

III.D.1.e. Epilepsia parcial

Incluye los cuadros de crisis parciales simples, crisis parciales complejas y crisis tónico-clónicas secundariamente generalizadas. Aunque el valproato es más eficaz en las parciales simples y en las tónico-clónicas generalizadas, tomando en conjunto todas las crisis parciales se obtiene una desaparición de las crisis a largo plazo en el 43% de los pacientes tratados con este fármaco en forma de monoterapia (Dean JC et al, 1988; Dulac O et al, 1986).

III.D.1.f. Síndrome de West

El valproato permite controlar la frecuencia de las crisis en un 70% de los pacientes y hace desaparecer el cuadro en aproximadamente un 30% de los mismos (Kotlarek F et al, 1987; Dulac O et al, 1986; Prats JM et al, 1991). En un estudio sobre 13 pacientes, la administración de valproato junto con vitamina B6 dió lugar a la aparición de un número significativamente menor de crisis que la administración aislada de valproato (Ito M et al, 1991). Además, en el tratamiento de este síndrome es al menos igual de eficaz que la adrenocorticotropina (ACTH) sin producir efectos adversos tan importantes (Dyken PR et al, 1985).

III.D.1.g. Síndrome de Lennox-Gastaut

Es una de las epilepsias de más difícil tratamiento. Aún así, la monoterapia con valproato permite la disminución del 80% de las crisis (Covanis A et al, 1982).

III.D.2. En el tratamiento de otros procesos:

a. En niños con retraso mental y trastornos afectivos (Kastner T et al, 1990).

b. Como alternativa al carbonato de litio en los pacientes con psicosis maniaco-depresiva resistentes a este tratamiento (Post RM, 1990; Mauri MC et al, 1990; Shlisselberg N et al, 1990; Calabrese JR et al 1990).

c. Actividad antiulcerogénica en ratas, al igual que el N-ftaloil GABA (Bhowmick S et al, 1990).

d. En el tratamiento de la corea de Sydenham, a dosis de 15-20 mg/kg/día (Daoud AS et al, 1990).

e. Efectos ansiolíticos en diferentes pruebas de conducta animal (ratas), así como otros agonistas GABA como muscimol y baclofen (Shephard RA et al, 1990).

f. Atenúa el desarrollo de hipertensión en ratas con hipertensión espontánea, al igual que el agonista del receptor GABA muscimol (Sasaki S et al, 1990).

g. En trastornos fóbicos (Primeau F et al, 1990)

h. En el tratamiento de la incontinencia anal de grado

leve en pacientes sometidos a anastomosis ileo-anal (Kusunoki M et al, 1990).

i. En el tratamiento de los cuadros coreiformes asociados al envejecimiento (Hoffman AS et al, 1990)

j. En la toxicidad aguda por cocaína disminuye de forma notable el cuadro convulsivo (Derlet RW et al, 1990).

k. En el tratamiento de la epilepsia postraumática (Fesler FA, 1991).

l. Para el control rápido de los cuadros de manía aguda (Mitchell P et al, 1991; Chou JC, 1991), incluso en el contexto del síndrome de Down (Sovner R, 1991), y en las formas de manía del anciano (McFarland BH et al, 1990).

m. En hamsters dtsz mutantes atenúa los movimientos distónicos (Fredow G et al, 1991).

n. En la profilaxis de la cefalea recidivante crónica (Mathew NT et al, 1991).

ñ. En el tratamiento de la enfermedad de Cushing de origen hipotalámico por su acción inhibidora de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) (Beckers A et al, 1990; García-Rojas JF et al, 1991).

o. En el tratamiento de la mioclonía espinal (Jimenez FJ et al, 1991).

p. En el control de las mioclonías en la enfermedad de Huntington (Vogel CM et al, 1991).

q. En el tratamiento de la esquizofrenia, asociado a neurolépticos (Moriñigo A et al, 1989).

r. En la estabilización a largo plazo de los cuadros de migraña (Raskin NH, 1990).

III.E. Toxicidad y efectos secundarios

III.E.1. Efectos hepáticos

El mecanismo responsable de la hepatotoxicidad del ácido valproico no ha sido completamente aclarado aunque parece de tipo idiosincrásico, no relacionado con la dosis, y relacionado con alguna alteración metabólica que da lugar a la aparición de metabolitos tóxicos (Zimmerman HJ et al, 1982; Lenn NJ et al, 1990). Se ha propuesto que la hepatotoxicidad del valproato puede representar las consecuencias de una sobrecarga del mismo debido a una capacidad limitada de la beta-oxidación mitocondrial del valproato, fundamentalmente en la fase catalizada por las acil-CoA deshidrogenasas de ácidos grasos, con el consiguiente acúmulo de algún producto tóxico procedente del metabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada (Eadie MJ et al, 1990) y la subsiguiente alteración en el metabolismo de los ácidos grasos (Appleton RE et al, 1990).

La toxicidad hepática se manifiesta en forma de cuadros de insuficiencia hepática aguda de tipo Reye y de carácter mortal, y en forma de elevación asintomática de transaminasas. Esta última suele tener carácter transitorio, responde a la disminución de la dosis y su

incidencia en pacientes que reciben tratamientos prolongados es de aproximadamente el 11% (Powell-Jackson PR et al, 1984).

Los cuadros de insuficiencia hepática grave son mucho menos frecuentes, del orden de 1 caso por cada 7,000 pacientes que reciben valproato, y aparecen claramente relacionados con varios factores de riesgo:

a. Alteraciones metabólicas congénitas, fundamentalmente las relacionadas con el ciclo de la urea (deficiencia de ornitina-carbamiltransferasa) (Hjelm M et al, 1986; Kay JDS et al, 1986) y la deficiencia de carnitina (Coulter DL, 1984).

b. Enfermedad cerebral orgánica asociada a crisis graves, retraso mental u otras enfermedades neurológicas (Dreifuss FE et al, 1987).

c. Politerapia: La administración simultánea de fenobarbital, fenitoina o carbamazepina, que tienen capacidad inductora sobre el citocromo P-450, hace posible la producción de metabolitos tóxicos del valproato a través de la w-oxidación (Rettie AE et al, 1987), posiblemente 2-en-propilglutarato (Kuhara T et al, 1990).

d. La edad menor de 2 años aumenta significativamente el riesgo de esta complicación, riesgo que disminuye paulatinamente al aumentar la edad del paciente que toma el fármaco (Dreifuss FE et al, 1987).

Los síntomas prodrómicos específicos de la toxicidad hepática aguda son vómitos, anorexia, aletargamiento, debilidad, somnolencia, edema, ictericia y pérdida del control de las crisis (Jeavons PM, 1984).

La identificación de los pacientes de riesgo elevado ha dado lugar a una disminución ostensible en la frecuencia de aparición de los cuadros de insuficiencia hepática aguda de carácter mortal (Dreifuss FE et al, 1988; Willmore LJ et al, 1991).

Aunque en algunos casos la supresión del fármaco ha dado lugar a la recuperación del paciente (Thygesen J et al, 1982), en otros ha progresado hacia un coma irreversible a pesar de la interrupción en la administración de valproato.

III.E.2. Efectos pancreáticos

Se han descrito cuadros de hiperamilasemia asintomática y cuadros de pancreatitis aguda. Los primeros suelen ser de naturaleza transitoria (Bale JF et al, 1982). En relación con la pancreatitis aguda, su incidencia es escasa en los pacientes en tratamiento con valproato, y no parece ser un efecto relacionado con la dosis (Williams LHP et al, 1983). Se inicia con náusea, dolor abdominal agudo y vómitos y puede dar lugar a una pancreatitis hemorrágica (Wyllie E et al, 1984). Al menos en un caso ha presentado una evolución mortal en asociación con insuficiencia hepática aguda (Bouget J et al, 1990).

III.E.3. Efectos metabólicos

El efecto metabólico del valproato que tiene mayor repercusión en clínica es la hiperamonemia.

Se ha propuesto que la hiperamonemia es fundamentalmente

de origen renal: los riñones liberan hacia el torrente circulatorio una cantidad de amoniaco superior a la normal debido, posiblemente, a un incremento del catabolismo de la glutamina o a una disminución en la síntesis de la misma (Warter JM et al, 1983). Además, el hígado del paciente que está tomando valproato presenta una alteración en los procesos mitocondriales del ciclo de la urea, lo que da lugar a una disminución en la eliminación hepática del amoniaco de la sangre (Marini AM et al, 1988; Castro-Gago M et al, 1990). Los defectos enzimáticos del ciclo de la urea, especialmente las deficiencias de carbamilfosfosintetasa y de ornitina carbamiltransferasa han dado lugar a algunos cuadros de hiperamonemia en pacientes tratados con valproato (Batshaw ML et al, 1982; Kay JDS et al, 1986). Otros casos de hiperamonemia en estos pacientes han sido atribuidos a deficiencia de carnitina (Ohtani Y et al, 1982).

La hiperamonemia sintomática cursa con vómitos, ataxia o confusión, y su incidencia es más elevada en los pacientes tratados simultáneamente con otros fármacos antiepilépticos, fundamentalmente fenobarbital, fenitoina o ambos (Zaccara G et al, 1987).

Otros factores que aumentan la incidencia de hiperamonemia en pacientes que reciben valproato son la ingesta de carbohidratos y proteínas (Laub MC, 1986) y el ejercicio físico (Zaret BS et al, 1985).

III.E.4. Efectos hematológicos

El efecto hematológico principal del valproato es la

trombocitopenia, que es infrecuente y que habitualmente responde a la supresión o a la disminución de la dosis del fármaco. La normalidad del componente megacariocitario en la médula ósea de los pacientes que han presentado esta complicación sugiere que la trombocitopenia se debe a un consumo excesivo de plaquetas (Morris N et al, 1981).

También se ha propuesto un mecanismo inmunológico para la trombocitopenia debido a la observación de anticuerpos IgM circulantes o fijados a plaquetas (Sandler RM et al, 1979).

Otras alteraciones hematológicas menos frecuentes observadas en pacientes tratados con valproato son

- a. Anomalías en la agregación plaquetaria (von Voss H et al, 1976).
- b. Prolongación del tiempo de hemorragia (Sussman NM et al, 1979).
- c. Prolongación en los tiempos de protrombina y parcial de tromboplastina con disminución de uno o más factores de la coagulación (Brandl U et al, 1986), y con aparición de cuadros de enfermedad de von Willebrand (Kreuz W et al, 1990).
- d. Disminución en los niveles de fibrinógeno (Sackellares JC et al, 1980).
- e. Leucopenia (Barr RD et al, 1982)
- f. Supresión de médula ósea en casos aislados con desaparición del cuadro al suprimir el valproato (Smith FR et al, 1980).
- g. Síndrome mielodisplásico (Ganick DJ et al, 1990).

III.E.5. Efectos neurológicos

A nivel neurológico, el ácido valproico puede producir un temblor con características similares al temblor esencial, con una incidencia que ha oscilado entre el 1% y el 11.7% en diferentes estudios (Covanis A et al, 1982). El mecanismo patogénico del temblor en estos pacientes es desconocido aunque se ha propuesto que el valproato podría interaccionar con cualquiera de los neurotransmisores implicados en la producción de temblor (Karas BJ et al, 1982).

En un estudio se ha considerado al valproato como causante de asterixis (Bodensteiner JB et al, 1981). Independientemente de la hiperamonemia, el valproato puede dar lugar a cuadros de estupor, confusión y coma en pacientes aislados, posiblemente por una acción sedante intrínseca del valproato a nivel cerebral (Sackellares JC et al, 1979; Marescaux C et al, 1982).

El efecto más frecuente del valproato sobre la función cognitiva es un aumento en el nivel de alerta que, aunque suele tener un efecto beneficioso, en casos aislados ha dado lugar a deterioro del comportamiento, hiperactividad y agresividad (Covanis A et al, 1982; Thompson PJ et al, 1982; Bellman MH et al, 1977; Smith DB, 1991).

III.E.6. Otros efectos

a. Gastrointestinales: Su incidencia es muy variable, oscilando entre el 6% y el 45%, y consisten en pirosis, náuseas, vómitos, diarrea y anorexia (Covanis A et al, 1982). Su incidencia disminuyó en gran medida al sustituir la formulación ácida (ácido valproico) por la

sal sódica correspondiente (valproato sódico) (Sherard ES et al, 1980). La introducción de grageas con recubrimiento entérico ha eliminado en la práctica los efectos secundarios gástricos (Schmidt D, 1984).

b. Endocrinológicos: Se han publicado casos aislados de amenorrea secundaria relacionada con la administración de valproato, aunque en la mayor parte de los casos el cuadro amenorréico desapareció al cabo de varios meses sin necesidad de modificar la dosificación de este medicamento (Margraf JW et al, 1981).

Posiblemente, el efecto adverso más frecuente producido por la administración de valproato es el aumento de peso de los pacientes, aumento que está en relación con el aumento del apetito, el incremento en el depósito de grasa y el edema que aparece en ocasiones en este tipo de pacientes (Egger J et al, 1981; Dinesen H et al, 1984).

c. Dermatológicos: Los más frecuentes son los cambios en la naturaleza del cabello, cuya incidencia oscila entre el 2.6% y el 11%, y que consisten en adelgazamiento y ondulación del mismo (Gupta AK, 1988). En ocasiones se produce alopecia transitoria (Hassan MN et al, 1976). Se han descrito también casos muy aislados de erupciones cutáneas de carácter inespecífico y evolución autolimitada (Bruni J et al, 1983), así como un caso de porfiria cutánea tarda (Flueckiger F et al, 1991) y de vasculitis cutánea (Kamper AM et al, 1991).

d. Teratogénicos: Los efectos teratogénicos producidos por el valproato son bien conocidos (Martinez-Frias ML, 1990) y los más frecuentes son los defectos del tubo neural, de forma que una mujer epiléptica que tome

valproato durante el embarazo tiene un riesgo próximo al 1.2% de tener un hijo con esta complicación (Robert E et al, 1983). En embriones de ratón se ha demostrado un acúmulo selectivo del valproato en el neuroepitelio (Dencker L et al, 1990).

Se ha descrito también un "síndrome valproico fetal" de carácter dismórfico que incluye aplasia radial bilateral, focomelia proximal unilateral en miembro superior, hipoplasia renal y atrofia cerebral (Verloes A et al, 1990).

e. Sobredosis: La sobredosis accidental o voluntaria produce depresión grave del SNC y dificultad respiratoria con fallecimiento para concentraciones plasmáticas 20 veces superiores a los niveles terapéuticos (Schnabel R et al, 1984).

A nivel sistémico, la sobredosis de valproato produce hiperamonemia, trombocitopenia y pancreatitis (Bigler D, 1985). A nivel bioquímico, se han observado hiperamilasemia, hipocalcemia, hipernatremia e hiperglucemia (Janssen F et al, 1985).

f. Misceláneos: Se han observado casos aislados de hiperplasia gingival (Behari M et al, 1991).

Al menos, se han descrito dos casos de lupus eritematoso sistémico atribuido a la administración de valproato (Bleck TP et al, 1990).

En animales de experimentación tratados con valproato se han observado patrones de inhibición de la copulación similares a los producidos por otros inhibidores de la GABA transaminasa (Agmo A et al, 1991).

ANEXO 2**I. Técnicas bioquímicas**

Técnica radioenzimática de Di Donato para determinación de carnitina libre y ésteres de carnitina en músculo esquelético, hígado y plasma (Di Donato S et al, 1984).

La técnica incluye los siguientes pasos:

1. Desproteínización y separación de las clases de carnitina:

- 1700 uL de ácido perclórico (PCA) 0,5 N +
300 uL de plasma, o bien
10 mg de hígado (+ 1 mL H₂O desionizada), o bien
15-20 mg de músculo (+ 2 mL H₂O desionizada)
- Agitar y dejar en hielo 10 minutos
- Centrifugar 1,5 minutos a 8000 rpm
- Se decanta el sobrenadante, que contiene CL y SCAC
- El precipitado se lava dos veces con 1000 uL de
PCA 0,3 N centrifugándose cada vez 1,5 minutos
a 8000 rpm

2. Dosificación diferencial de carnitina y ésteres de cadena corta (C2-C8):

- Se pipetea 1200 uL de sobrenadante
- Se añade una gota de Rojo fenol
- Se añaden 100 uL de Hepes KOH 0,5 M a pH 8,5
- Se deja 20 minutos en hielo
- Se neutraliza en el pH-metro con CO₃HK a pH 6,6-
6,9
- Llevamos a 1500 uL con el tampón (1 gota=10 uL)

- Se divide en

Fracción A

- 500 uL de sobrenadante
- 20 uL de tampón Hepes KOH 0,5 M a pH 7
- 140 uL de KCl 0,6 N (para ver la fuerza del medio)
- Obtenemos carnitina libre

Fracción B

- 500 uL de sobrenadante
- 100 uL de tampón Hepes 1 N (se produce la hidrólisis de carnitina libre y C2-C10)
- Se incuba 45 minutos a 37° C
- Se neutraliza con HCl 2 N (aprox, 3 gotas) utilizando pH-metro
- Añadir 20 uL de Hepes KOH 0,5 M a pH 7
- Obtenemos ésteres de cadena corta

3. Obtención de ésteres de cadena larga (C12-C20):

- Al precipitado lavado con PCA se le añaden 400 uL de H₂O
- 1 gota de Rojo Fenol
- Se sonica
- Se añaden 30 uL de KHCO₃ 3M (neutralización)
- Se incuba 90 minutos a 56° C
- Reneutralizamos con HCL 2N (precipitación de prot, 4 a 6 gotas) hasta que coge un color naranja-mandarina, Si nos pasamos en el pH añadimos 1-2 gotas de KOH hasta que el pH alcanza 6,6-6,9
- Añadir 20 uL de Hepes KOH a pH 7

4. Mezcla de incubación

2 muestras

- Acetil CoA ¹⁴C* diluido 1,33/7,84 nM 1500 uL

- Acetil CoA frio 1 uM/mL (100 nM) 100 uL
- NEM 3 mM (3,8 mg/1mL) 100 uL
- Hepes EDTA KOH 0,5 M pH 7 500 uL

5. Preparación de la curva standar: Mezcla standar

- 100 uL de Hepes KOH a pH 8,5
- Gota de Rojo Fenol
- 1000 uL de PCA
- 1000 uL de l-carnitina 25 uM
- 380-400 uL de CO₃HK hasta pH 7 (con pH-metro)

Quando se neutraliza queda límpio

- Agitar y 20 minutos en hielo (para precipitar)
- Hacemos las siguientes fracciones

Fracciones	H ₂ O	Mezcla standar
Blanco	500 uL	--
400	400 uL	100 uL
800	300 uL	200 uL
1600	100 uL	400 uL

- Añadir a cada fracción 20 uL de Hepes KOH a pH 7

6. Dosificación radioquímica

- 100 uL de muestras (por duplicado)
- 100 uL de mezcla de incubación
- 20 uL de CAT (diluída al 1/10)
- Agitar y dejar 30 minutos a temperatura ambiente
- Añadir 300 uL de resina Dowex 400 mientras se agita
- Agitar y 5 minutos en hielo (3 veces)
- Centrifugar 2 minutos a 8000 rpm
- Coger 300 uL de sobrenadante
- Añadir 3 mL de líquido de centelleo

- Agitar bien
- Esperar 24 h
- Leer en contador

II. Técnicas histoquímicas

A. NADH-deshidrogenasa (Nachlas MM et al, 1958)

- a) Incubación 30 min, a 37°C en una solución a pH 7,4 con:
 - Buffer tris 0,2 M (pH 7,4)
(Sigma T-1503^R)10 ml
 - Nitroazul de Tetrazolio (Sigma 6876^R).. 10 mg
 - NADH (DPNH) (Sigma 340-125^R)..... 8 mg
- b) Pases sucesivos por acetona al 30%, 60%, 90%, 60% y 30%
- c) Agua destilada
- d) Montaje en medio acuoso (Gurr Uvinert 36118^R)

B. ATP-asa con preincubación a pH 9,4 (ATP-asa A)

(Round JM et al, 1980)

- a) Incubación a temperatura ambiente durante 15 minutos en una solución a pH 9,4 con:
 - Buffer barbital-acetato 0,1 M 2 ml
 - Cloruro cálcico 0,18 M 2 ml
 - Agua destilada 6 ml
- b) Incubación a temperatura ambiente durante 45 minutos en una solución a pH 9,4 con:
 - Buffer barbital-acetato 0,1 M 2 ml

- Cloruro cálcico 0,18 M 1 ml
- Agua destilada 7 ml
- ATP, sal sódica (Sigma A3127)..... 25 mg
- c) Lavado en tres baños de cloruro cálcico al 1% durante un total de 10 minutos
- d) Lavado en cloruro de cobalto (Merck 2539) al 2% durante 3 minutos
- e) Lavado en ocho baños de buffer barbital-acetato 0,01 M
- f) Lavado en agua corriente durante 60 segundos
- g) Lavado en solución de sulfuro de amonio (Merck 5442) al 1% durante 30 segundos
- h) Lavado con agua destilada
- i) Deshidratación en etanoles de 96° y 100°
- j) Pase por xilol
- k) Montaje en DPX (BDH Chemicals 36029)

C. ATP-asa con preincubación a pH 4,6 (ATP-asa B)

(Round JM et al, 1980)

- a) Incubación a temperatura ambiente en buffer barbital-acetato a pH 4,6 durante 5 minutos
- b) Lavado con la solución del paso a) de la técnica n° 4 durante 30 segundos
- c) Posteriormente se siguen los mismos pasos que los descritos en la técnica n° 4 a partir del b) inclusive

D. ATP-asa con preincubación a pH 4,2 (ATP-asa C)

(Round JM et al, 1980)

- a) Incubación en buffer barbital-acetato a pH 4,2 durante 5 minutos
- b) Lavado con la solución del paso a) de la técnica n° 4 durante 30 segundos
- c) Posteriormente se siguen los mismos pasos que los descritos en la técnica n° 4 a partir del b)

inclusive

El buffer barbital-acetato utilizado en las técnicas de histoquímica para demostración de ATP-asa (A, B y C) se prepara de la siguiente manera:

a) Solución de:

- Acetato sódico 1/7 M (Merck 6267^R) .. 19,43 g
- Barbital sódico (Merck 6318^R) 29,43 g
- Agua destilada 1 l

b) El buffer se prepara con 50 ml de esta solución, 20 ml de cloruro sódico al 8,5% y ácido clorhídrico 0,1 N (1 ml para la ATP-asa A, 101,5 ml para la ATP-asa B y 117,5 ml para la ATP-asa completando con agua destilada hasta 250 ml.

E. SDH (succínico deshidrogenasa)

- a) Incubación a 37[°] C durante 30 minutos en una solución a pH 7,0 con:
- Succinato sódico (Ferosa S-0645^R) 100 mg
 - Nitroazul de tetrazolio (Sigma 6876^R) 10 mg
 - Buffer tris 0,1 M (Sigma T1503^R) 10 ml
- b) Pases sucesivos por acetona al 30%, 60%, 90%, 60% y 30%
- c) Lavado en agua destilada
- d) Montaje en medio acuoso (Gurr Uvinert 36118^R)

F. Sudán Rojo

- a) Sudán Rojo III filtrado 30 min
- b) Lavado en agua corriente
- c) Etanol de 30[°] 5 min
- d) Lavado en agua corriente
- e) Hematoxilina de Cooley 15 min
- f) Lavado en agua corriente
- g) Montaje en medio acuoso (Gurr Uvinert 36118^R)

La solución de Sudán Rojo III se prepara disolviendo 1 g de sudán III en 100 ml de etanol caliente e incubando esta solución a 57° C durante 18 horas

ANEXO 3

I. Datos crudos del peso corporal

La evolución temporal (día-mes) de los pesos (en gramos) de cada animal de los distintos grupos de tratamiento a lo largo de toda la fase de experimentación fué la siguiente:

Grp	n	Fecha de pesaje										
		17-2	22-2	29-2	7-3	14-3	21-3	28-3	11-4	18-4	25-4	2-5
1	1	170	190	200	220	230	230	230	240	240	250	260
1	2	170	190	210	220	230	230	240	240	250	250	260
1	3	170	190	200	210	220	230	240	240	250	250	250
1	4	180	190	210	220	240	240	240	240	250	250	260
1	5	160	170	190	200	220	230	230	230	240	240	240
2	6	170	180	200	220	230	230	240	250	260	270	270
2	7	180	190	220	230	240	240	250	259	260	260	270
2	8	160	170	180	180	200	210	220	230	230	240	240
2	9	170	200	190	210	230	240	250	250	260	270	280
2	10	170	190	200	210	230	230	240	250	260	260	260
3	11	170	190	190	200	220	220	220	230	250	250	250
3	12	170	200	200	220	240	250	260	260	260	260	260
3	13	180	180	200	220	220	220	240	250	270	280	280
3	14	170	200	200	220	240	250	250	250	260	270	270
3	15	170	190	200	210	230	250	250	260	280	280	280
4	16	170	190	200	210	220	220	230	240	240	250	250
4	17	190	210	220	230	250	250	260	270	280	280	280
4	18	170	190	200	210	220	220	230	240	240	250	250
4	19	180	190	200	220	220	240	240	250	260	260	260
4	20	170	180	190	210	210	230	230	240	240	250	250
5	21	180	200	210	230	250	250	260	280	280	280	280
5	22	170	180	200	220	240	250	250	260	260	270	270
5	23	190	200	220	230	250	250	250	270	290	290	290
5	24	180	190	210	230	240	240	250	260	270	270	270
5	25	170	190	190	200	210	220	240	250	250	260	260
6	26	180	190	200	220	240	240	250	260	270	270	270
6	27	180	190	230	250	270	280	280	280	290	290	290
6	28	170	190	220	240	260	260	280	280	290	300	300
6	29	170	180	200	220	240	240	240	250	270	280	280
6	30	170	180	190	200	220	220	220	230	240	250	250

II. Datos crudos del estudio bioquímico

Los valores de musculo e higado están expresados en nmol/mg NCP
 Los valores plasmaticos lo están en nmol/ml

Gr	n	Plasma			Hígado			Músculo		
		CL	SCAC	LCAC	CL	SCAC	LCAC	CL	SCAC	LCAC
1	1	20,5	4,7	2,61	6,5	2,2	0,21	10,1	2,8	1,10
1	2	18,2	5,8	2,10	4,8	1,6	0,62	9,7	3,3	0,80
1	3	26,1	6,4	1,10	5,5	2,2	0,55	14,2	2,4	1,50
1	4	25,5	6,2	1,40	7,5	2,8	0,50	10,8	3,9	1,80
1	5	27,7	5,4	1,55	6,8	3,4	0,38	12,7	4,1	1,20
2	6	12,2	15,5	3,70	4,2	2,0	1,50	9,1	2,2	2,25
2	7	15,5	12,8	3,70	3,6	1,8	1,80	9,2	3,8	2,15
2	8	18,2	10,6	4,20	4,5	2,5	2,50	10,8	3,5	2,31
2	9	14,2	8,8	4,50	5,2	2,0	2,60	10,5	4,2	3,20
2	10	11,8	10,5	3,80	5,5	2,6	3,20	10,8	4,2	1,60
3	11	8,2	16,8	3,80	2,6	2,2	2,00	9,0	3,5	3,30
3	12	10,4	18,8	3,90	2,4	1,6	2,20	8,8	4,6	2,81
3	13	8,8	11,9	7,70	2,7	2,2	3,00	10,5	3,9	2,77
3	14	12,5	14,2	6,80	3,8	1,6	3,20	11,6	4,4	3,95
3	15	9,6	11,2	7,10	4,1	2,5	3,80	11,2	5,2	2,30
4	16	22,8	19,2	2,28	5,2	2,2	0,20	10,2	2,6	1,81
4	17	20,5	18,8	2,20	4,9	1,8	0,45	10,5	3,9	1,60
4	18	22,6	16,2	0,80	6,2	1,8	0,60	10,5	3,8	1,55
4	19	19,5	14,5	1,10	7,2	2,9	0,65	11,8	3,6	1,88
4	20	30,2	13,8	1,20	8,8	3,2	0,40	12,2	3,5	1,70
5	21	20,5	19,9	1,80	4,6	2,0	0,35	10,8	3,4	2,20
5	22	18,8	19,2	2,30	4,2	1,8	0,55	10,2	4,2	1,60
5	23	20,2	19,8	2,25	5,5	2,0	0,60	10,6	3,6	1,40
5	24	18,6	18,2	2,10	6,0	1,7	0,48	11,0	4,0	2,00
5	25	26,8	16,2	1,10	5,2	2,2	0,42	11,8	5,5	1,60
6	26	22,6	4,2	2,40	7,2	2,8	0,48	11,2	2,6	0,90
6	27	24,5	6,0	2,00	5,2	1,4	0,55	9,4	3,0	1,10
6	28	24,8	6,2	1,70	5,5	2,0	0,46	15,5	2,6	1,20
6	29	29,8	6,6	1,60	7,2	2,4	0,62	11,8	4,1	1,90
6	30	30,5	5,5	1,80	6,6	3,5	0,46	16,2	4,0	1,80

III. Datos crudos de la morfometría óptica

Dado el elevado número de mediciones a continuación se incluyen las cifras medias del diámetro de las fibras tipo I y tipo II de cada músculo de cada animal, en μ . La cifra entre paréntesis corresponde al número de fibras medidas.

Grp	n	Sóleo		ELD	
		Tipo I	Tipo II	Tipo I	Tipo II
1	1	51,93(238)	37,75(5)	29,00(40)	42,19(196)
1	2	49,91(248)	52,51(34)	24,53(34)	42,74(223)
1	3	47,96(203)	39,46(21)	23,96(52)	42,51(173)
1	4	45,72(201)	38,42(45)	30,43(16)	43,70(211)
1	5	48,80(222)	42,03(26)	35,25(20)	48,95(237)
2	6	54,10(215)	47,15(56)	24,95(29)	37,43(202)
2	7	52,58(185)	35,33(77)	26,37(49)	39,43(232)
2	8	47,88(243)	39,67(22)	32,65(23)	43,36(238)
2	9	51,30(217)	50,71(42)	29,24(41)	41,02(234)
2	10	50,33(256)	31,49(1)	35,27(16)	47,52(197)
3	11	57,05(243)	30,82(1)	30,57(36)	38,44(221)
3	12	60,95(234)	46,23(34)	26,40(38)	39,87(219)
3	13	51,10(213)	45,46(51)	28,24(39)	40,77(214)
3	14	53,42(188)	49,19(46)	28,21(27)	38,98(234)
3	15	57,11(235)	29,93(1)	31,49(52)	44,08(214)
4	16	50,54(265)	22,55(1)	26,59(44)	43,05(357)
4	17	54,42(220)	41,64(13)	25,48(38)	45,51(272)
4	18	50,05(277)	46,99(19)	39,23(27)	51,41(245)
4	19	54,04(233)	41,21(30)	29,48(39)	48,39(248)
4	20	50,65(270)	55,80(1)	30,19(37)	47,09(280)
5	21	52,25(217)	51,88(37)	32,01(26)	42,49(286)
5	22	49,43(247)	43,05(70)	30,43(19)	44,94(267)
5	23	48,07(267)	45,12(37)	30,94(30)	44,25(273)
5	24	50,07(245)	47,76(6)	28,33(2)	48,07(242)
5	25	42,47(302)	37,80(35)	30,43(19)	44,94(267)
6	26	46,27(267)	46,63(27)	26,91(23)	49,83(242)
6	27	50,41(268)	47,43(36)	25,27(32)	46,32(266)
6	28	48,08(235)	49,37(60)	24,62(26)	40,00(299)
6	29	49,24(234)	46,28(21)	25,60(27)	45,38(269)
6	30	47,88(273)	47,43(36)	25,60(27)	45,38(269)

**IV. Datos crudos de la morfometría
ultraestructural**

A. Area mitocondrial

Las mediciones de la superficie mitocondrial (en μ^2) efectuadas en el músculo sóleo (fibras tipo I) de cada grupo de tratamiento fueron las siguientes (la cifra entre paréntesis indica el número de mediciones realizadas):

SOLEO

Grp 1	Grp 2	Grp 3	Grp 4	Grp 5	Grp 6
0,02(1)	0,02(1)	0,01(5)	0,01(3)	0,01(4)	0,01(1)
0,03(6)	0,03(2)	0,02(31)	0,02(5)	0,02(8)	0,02(1)
0,04(9)	0,04(7)	0,03(33)	0,03(3)	0,03(9)	0,03(7)
0,05(11)	0,05(9)	0,04(20)	0,04(8)	0,04(2)	0,04(9)
0,06(5)	0,06(9)	0,05(10)	0,05(10)	0,05(14)	0,05(4)
0,07(8)	0,07(6)	0,06(14)	0,06(1)	0,06(6)	0,06(7)
0,08(4)	0,08(6)	0,07(3)	0,07(2)	0,07(2)	0,07(5)
0,09(3)	0,09(7)	0,08(2)	0,08(4)	0,08(1)	0,08(10)
0,11(5)	0,10(4)	0,10(1)	0,09(1)	0,09(1)	0,09(4)
0,13(3)	0,11(4)	0,11(1)	0,10(2)	0,11(1)	0,10(5)
0,14(3)	0,12(3)		0,12(2)	0,13(2)	0,11(3)
0,15(2)	0,13(2)		0,16(2)	0,14(2)	0,12(2)
0,17(1)	0,14(1)		0,33(1)	0,25(1)	0,13(3)
0,19(1)	0,15(4)				0,16(1)
0,20(1)	0,16(1)				0,19(1)
0,21(1)	0,17(3)				0,22(2)
0,23(1)	0,20(1)				0,25(1)
0,26(1)					
0,37(1)					
0,56(1)					

Con respecto al músculo ELD (fibras tipo II), las áreas mitocondriales medidas (en μ^2) fueron las siguientes (entre paréntesis el número de mediciones):

ELD					
Grp 1	Grp 2	Grp 3	Grp 4	Grp 5	Grp 6
0,01(12)	0,02(3)	0,03(3)	0,01(1)	0,02(4)	0,01(1)
0,02(8)	0,03(4)	0,04(3)	0,02(8)	0,03(6)	0,02(5)
0,03(11)	0,04(2)	0,05(9)	0,03(18)	0,04(4)	0,03(6)
0,04(9)	0,05(3)	0,06(7)	0,04(18)	0,05(1)	0,04(3)
0,05(5)	0,06(7)	0,07(7)	0,05(5)	0,08(2)	0,05(4)
0,06(4)	0,07(1)	0,08(1)	0,06(5)	0,09(1)	0,06(1)
0,07(2)	0,08(1)	0,09(2)	0,07(3)	0,10(2)	0,07(3)
0,08(2)	0,09(2)	0,10(3)	0,08(1)	0,16(1)	0,08(1)
0,10(3)	0,11(1)	0,12(2)	0,09(1)		0,10(1)
0,11(2)	0,12(1)	0,13(2)	0,15(1)		0,11(1)
0,13(1)	0,13(2)	0,14(2)			0,12(1)
0,16(1)	0,14(2)	0,16(1)			
	0,18(2)	0,25(1)			
	0,19(2)	0,34(1)			
	0,21(1)				
	0,23(1)				
	0,43(1)				
	0,44(1)				

B. Grosor de la banda Z

A continuación se incluyen las mediciones del grosor de la banda Z, en $m\mu$, de los músculos sóleo (fibras tipo I) y ELD (fibras tipo II) en cada grupo de tratamiento:

Sóleo						ELD					
1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
130	120	130	130	140	160	070	090	090	070	100	100
140	120	150	150	130	160	070	080	120	060	100	080
130	150	130	120	140	190	080	110	100	070	080	090
120	120	150	110	160	170	080	090	110	070	090	090
140	130	120	140	130	130	080	090	100	080	070	090
150	110	120	170	160	150	060	110	090	080	080	100
110	130	120	150	130	160	090	090	110	080	090	080
130	140	120	150	160	140	070	060	100	070	070	090
120	140	130	140	130	140	070	100	110	070	080	100
140	120	140	140	140	170	080	080	100	060	070	130
130	120	110	130	140	160	070	080	070	090	100	090
130	120	110	140	150	150	080	090	090	080	090	090
130	120	120	140	160	150	060	080	110	060	090	110
120	110	120	160	150	190	080	090	090	080	100	090
140	120	110	120	160	180	080	080	120	080	090	120
140	140	110	140	140	150	070	060	110	080	090	110
110	130	100	160	150	120	070	070	100	090	090	100
130	140	110	150	140	130	080	080	090	070	090	120
120	130	110	160	130	130	070	080	090	070	100	100
140	140	140	160	130	150	080	090	100	080	100	100
120	110	130	150	140	140	080	090	100	070	100	090
120	130	130	150	160	130	070	090	100	080	080	080
110	140	120	150	130	170	070	070	120	080	100	100
100	150	130	170	170	170	080	090	110	070	090	110
120	130	130	170	130	160	080	090	130	080	080	100
100	130	140	130	150	160	080	090	130	080	090	090
140	130	120	140	130	140	080	060	110	080	100	100
110	120	140	160	160	140	080	080	100	090	080	110
110	130	100	150	150	130	100	070	080	090	080	090
150	150	110	160	160	140	070	080	100	080	080	100

BIBLIOGRAFIA

Abadin JA, Duran JA, Sanchez A, Serrano JS
Total and free valproic acid: plasma level/dose ratio in monotherapy
Methods Find Exp Clin Pharmacol 13: 221-225, 1991

Abraira V, Zaplana J
En Abraira V, Zaplana J (eds.): Presta V2.2 para PCs. Paquete de procesamientos Estadísticos. Manual de Usuarios. Fondo de Investigación Sanitaria, Madrid, 1992

Adamo S, Tonon M, Carrara M, Sartori G, Ghidini O
Effect of carnitine on serum triglycerides in alcoholism: a double-blind placebo controlled trial
En Borum PR (ed.): Clinical aspects of human carnitine deficiency, p. 244, Pergamon Press, New York, 1986

Agmo A, Contreras JL, Paredes R
Sexual behavior and copulatory thrusting patterns in male rabbits treated with GABA transaminase inhibitors
Physiol Behav 49: 73-78, 1991

Albani F, Riva R, Contin M, Baruzzi A, Altomare M, Merlini GP, Perucca E
Differential transplacental binding of valproic acid: Influence of free fatty acids
Br J Clin Pharmacol 17: 759-762, 1979

Alexander FW
Sodium valproate and pregnancy
Arch Dis Child 54: 240-245, 1979

Alonso de la Pena C, Rozas I, Alvarez Prechous A, Pardinás MC, Paz JM, Rodríguez Segade S
Free carnitine and acylcarnitine levels in sera of alcoholics
Biochem Med Metab Biol 44: 77-83, 1990

Amodio P, Angeli P, Merkel C, Menon F, Gatta A
Plasma carnitine levels in liver cirrhosis: Relationship with nutritional status and liver damage
J Clin Chem Clin Biochem 28: 619-626, 1990

Angelini C, Govoni E, Bragaglia MM, Vergani L
Carnitine deficiency: Acute postpartum crisis
Ann Neurol 4: 558-560, 1978
Angelini C, Locke S, Cantarutti F
Carnitine deficiency of skeletal muscle: Report of a
treated case
Neurology 26: 633-637, 1976

Angelini C, Vergani L, Costa L, Martinuzzi A, Dunner E,
Clinical study of efficacy of l-carnitine and metabolic
observations in exercise physiology
En Borum PR (ed.): Clinical aspects of human carnitine
deficiency, p 38, Pergamon Press, New York, 1986

Appleton RE, Farrell K, Applegarth DA, Dimmick JE, Wong
LT, Davidson AG
The high incidence of valproate hepatotoxicity in infants
may relate to familial metabolic defects
Can J Neurol Sci 17: 145-148, 1990

Arenas J, Ricoy JR, Encinas AR, Pola P, D'iddio S,
Zeviani M, Di Donato S, Corsi M
Carnitine in muscle, serum, and urine of non-professional
athletes: Effects of physical exercise, training and
l-carnitine administration
Muscle Nerve 14: 598-604, 1991

Ariano MA, Armstrong RB, Edgerton VR
Hindlimb muscle fiber populations of five mammals
J Histochem Cytochem 21: 51-5, 1973

Armstrong RB, Phelps RO
Muscle fiber type composition of the rat hindlimb
Am J Anatomy 171: 259-272, 1984

Arrigo A, Casale R, Buonocore M, Ciano C
Effects of acetyl-l-carnitine on reaction times in
patients with cerebrovascular insufficiency
Int J Clin Pharmacol Res 10: 133-137, 1990

Askanas V, Engel WK, Kwan HH
Autosomal dominant syndrome of lipid neuromyopathy with
normal carnitine: Successful treatment with long-chain
fatty-acid-free diet
Neurology 35: 66-72, 1985

Avigan J, Askanas V, Engel WK
Muscle carnitine deficiency: Fatty acid metabolism in
cultured fibroblasts and muscle cells
Neurology 31: 1557-1561, 1983

Bale JF, Gay PE, Madsen JA
Monitoring of serum amylase levels during valproic acid
therapy
Ann Neurol 2: 217-218, 1982

Bano G, Gupta S, Gupta KL, Raina RK
Pharmacokinetics of valproic acid after administration of
three oral formulations in healthy adults
J Assoc Physicians India 38: 629-630, 1990

Barr RD, Copeland SA, Stockwell ML, Morris N, Kelton JC
Valproic acid and immune thrombocytopenia
Arch Dis Child 57: 681-684, 1982

Batshaw ML, Brusilow SW
Valproate-induced hyperammonaemia
Ann Neurol 11: 319-321, 1982

Bauer LA, Davis R, Wilensky A, Raisys V, Levy RH
Valproic acid clearance, unbound fraction and diurnal
variation in young and elderly adults
Clin Pharmacol Ther 37: 697-700, 1985

Bautista J, Rafel E, Martinez A, Sainz I, Herrera J,
Segura L, Chinchon I
Familial hypertrophic cardiomyopathy and muscle carnitine
deficiency
Muscle Nerve 13: 192-194, 1990

Bazzato G, Coli U, Landini S, Mezzina C, Ciman M
Myasthenia-like syndrome after dl- but not l-carnitine
Lancet 1: 1209, 1981

Beckers A, Stevenaert A, Pirens G, Flandroy P, Sulon J,
Hennen G
Cyclical Cushing's disease and its successful control
under sodium valproate
J Endocrinol Invest 13: 923-929, 1991

Beghi E, Bizzi A, Codegoni AM, Trevisan D, Torri W
Valproate, carnitine metabolism, and biochemical
indicators of liver function.
Epilepsia 31: 346-352, 1990

Behari M
Gingival hyperplasia due to sodium valproate (letter)
J Neurol Neurosurg Psychiatry 54: 279-280, 1991

Bell RM, Ballas LM, Coleman RA
Lipid topogenesis
J Lipid Res 22: 391-414, 1981

Bella R, Biondi R, Raffaele R, Pennisi G
Effect of acetyl-l-carnitine on geriatric patients
suffering from dysthymic disorders
Int J Clin Pharmacol Res 10: 355-360, 1991

Bellinghieri G, Savica V, Mallama A, Di Stefano C,
Consolo F
Correlation between increased serum and tissue
l-carnitine levels and improved muscle symptoms in
hemodialyzed patients
Am J Clin Nutr 38: 523-531, 1983

Bellman MH, Ross EM
Side effects of sodium valproate
Br Med J 1: 1662, 1977

Bergstrom JD, Reitz RC
Studies on carnitine palmitoyltransferase: The similar
nature of CPT I (inner form) and CPT O (outer form)
Arch Biochem Biophys 204: 71-89, 1980

Bernsen PL, Gabreels FJ, Ruitenbeek W, Sengers RC,
Stadhouders AM, Renier WO
Successful treatment of pure myopathy, associated with
complex I deficiency, with riboflavine and carnitine
Arch Neurol 48: 334-338, 1991

Bertelli A, Conte A, Ronca G, Segnini D, Yu G
Protective effect of propionyl carnitine against
peroxidative damage to arterial endothelium membranes
Int J Tissue React 13: 41-43, 1991

Bertelli A, Giovannini L, Mian M, Spaggiari PG
Protective action of propionyl-L-carnitine on toxicity
induced by hyperbaric oxygen
Drugs Exp Clin Res 16: 527-530, 1991

Bhowmick S, Bose R, Pal M, Pal SP
Antiulcer activity of N-phtaloyl GABA, a new GABA mimetic
agent
Indian J Exp Biol 28: 190-192, 1990

Bieber L, Lysiak W, Kerner J
Use of HPLC for assaying carnitine derivatives
En Borum PR (ed.): Clinical aspects of human carnitine
deficiency, pp 66-74, Pergamon Press, New York, 1986

Bigler D
Neurological sequelae after intoxication with sodium
valproate
Acta Neurol Scand 72: 351-352, 1985

Binek J, Hany A, Egloff B, Heer M
Acute fatal liver insufficiency due to valproic acid
Schweiz Med Wochenschr 121: 228-233, 1991

Bjarkhem I, Danielsson H
Omega- and (omega-1)-oxidation of fatty acids by rat
liver microsomes
Eur J Biochem 17: 450-456, 1970

Blaha V, Simek J, Zivny P, Sobotka L, Zadak Z
Effect of parenteral administration of carnitine on liver
regeneration in partially hepatectomized rats
Physiol Bohemoslov 39: 233-242, 1990

Bleck TP, Smith MC
Possible induction of systemic lupus erythematosus by
valproate
Epilepsia 31: 343-345, 1990

Bloisi W, Colombo I, Garavaglia B, Giardini R,
Finocchiaro G, Di Donato S
Purification and properties of carnitine
acetyltransferase from human liver
Eur J Biochem 189: 539-546, 1990

Blokland A, Raaijmakers W, Van Der Staay FJ, Jolles J
Differential effect of acetyl-l-carnitine on open field
behavior in young and old rats
Physiol Behav 47: 783-785, 1990

Bodensteiner JB, Morris HH, Golden GS
Asterixis associated with sodium valproate
Neurology 31: 194-195, 1981

Bodis-Wollner I, Chung E, Ghilardi MF, Glover A, Onofri
M, Pasik P, Samson Y
Acetyl-levo-carnitine protects against MPTP-induced
parkinsonism in primates
J Neural Transm Park Dis Dement Sec 3: 63-72, 1991

Bohan TP, Millington DS, Roe CR, Yergey AL, Liberato DJ
Valproyl-carnitine: A novel metabolite of valproic acid
Ann Neurol 16: 394, 1984

Bohles H, Richter K, Wagner-Thiessen E, Schafer H
Decreased serum carnitine in valproate induced Reye
syndrome
Eur J Pediatr 139: 185-186, 1982

Bohles H, Ullrich K, Endres W, Behbehani AW, Wendel U
Inadquate iron availability as a possible cause of low
serum carnitine concentrations in patients with
phenylketonuria
Eur J Pediatr 150: 425-428, 1991

Bohmer T, Bergrem H, Eiklid K
Carnitine deficiency induced during intermittent
haemodialysis for renal failure
Lancet 1: 126, 1978

Borum PR
Plasma carnitine compartment and red blood cell carnitine
compartment of healthy adults
Am J Clin Nutr 46: 437-441, 1987

Borum PR
Regulation of the carnitine concentrations in plasma
En: Frenkel RA, McGarry JD (eds.). Carnitine
biosynthesis, metabolism and functions. New York:
Academic Press, 1980; pp 115-126

- Borum PR, Taggart EM
Carnitine nutriture of dialysis patients
J Am Diet Assoc 86: 644-647, 1986
- Boudin G, Mikol J, Guillard A, Engel AG
Fatal systemic carnitine deficiency with lipid storage in skeletal muscle, heart, liver, and kidney
J Neurol Sci 30: 313-325, 1976
- Bouget J, Deugnier Y, Camus C, Thoreux PH, Letulzo Y, Thomas R, Ramee MP
Valproic acid: Association of a fatal acute hepatitis and pancreatitis (letter)
Ann Med Interne Paris 141: 491-492, 1990
- Bowdle TA, Patel IH, Levy RH, Wilensky AJ
The influence of free fatty acids on valproic acid plasma protein binding during fasting in normal humans
Eur J Clin Pharmacol 23: 343-347, 1982
- Brandl U, Wenzel D, Ott R
Valproate-induced von Willebrand-Jurgens syndrome
Epilepsia 27: 588, 1986
- Brandt NJ
Symptoms and signs in organic acidurias
J Inher Metab Dis 7 (Suppl 1): 23-29, 1984
- Bremer J
Carnitine-metabolism and functions
Physiol Rev 63: 1420-1426, 1983
- Bremer J
The role of carnitine in intracellular metabolism
J Clin Chem Clin Biochem 28: 297-301, 1990
- Brevetti G, Chiarello M, Policchio N, Ferulano G, Nevola E
Hemodynamic and metabolic effects of l-carnitine in peripheral vascular disease
En Borum PR (ed.): Clinical aspects of human carnitine deficiency, pp 243-244, Pergamon Press, New York, 1986

Brodersen R, Jorgensen N, Vorum H, Krukow N
Valproate and palmitate binding to human serum albumin:
An hypothesis on obesity
Mol Pharmacol 37: 704-709, 1990

Brooke MH, Engel WK
The histographic analysis of human muscle biopsies with
regard to fiber types. 4. children's biopsies.
Neurology 19:591-605, 1969

Brownell AKW, Engel AG
Experimental lipid storage myopathy. A quantitative UE
and biochemical study
J Neurol Sci 35: 31-41, 1978

Bruni J, Albright P
Valproic acid therapy for complex partial seizures: Its
efficacy and toxic effects
Arch Neurol 40: 135-137, 1983

Bruni J, Wang LH, Marbury TC, Lee CS, Wilder BJ
Protein binding of valproic acid in uremic patients
Neurology 30: 557-559, 1980

Buechler KF, Lowenstein JM
The involvement of carnitine intermediates in peroxisomal
fatty acid oxidation: A study with 2-bromofatty acids
Arch Biochem Biophys 281: 233-238, 1990

Calabrese JR, Delucchi GA
Spectrum of efficacy of valproate in 55 patients with
rapid-cycling bipolar disorders
Am J Psychiatry 147: 431-434, 1990

Callaghan N, Kenny RA, O'Neill B, Crowley M, Goggin T
A prospective study between carbamazepine, phenytoin and
sodium valproate in previously untreated and recently
diagnosed patients with epilepsy
J Neurol Neurosurg Psychiatry 48: 639-644, 1985

Callaghan N, O'Hare J, O'Driscoll D, O'Neill B, Daly M
Comparative study of ethosuximide and sodium valproate in
the treatment of typical absence seizures (petit mal)
Develop Med Child Neurol 24: 830-836, 1982

Camíña MF, Rozas I, Gomez M, Paz JM, Alonso C, Rodríguez-Segade S
Short-term effects of administration of anticonvulsivant drugs on free carnitine and acylcarnitine in mouse serum and tissues
Br J Pharmacol 103: 1179-1183, 1991a

Camíña MF, Rozas I, Castro-Gago M, Paz JM, Alonso C, Rodríguez-Segade S
Alteration of renal carnitine metabolism by anticonvulsivant treatment
Neurology 41: 1444-1448, 1991b

Carbonin PU, Ramacci MT, Pahor M, Di Gennaro M, Gambassi G Jr, Lo Giudice P, Sgadari A, Pacifici L
Antyarrhythmic effect of l-propionylcarnitine in isolated cardiac preparations
Cardioscience 2: 109-114, 1991

Carrigan PJ, Brinker DR, Cavanaugh JH, Lamm JE, Cloyd JC
Absorption characteristics of a new valproate formulation: Divalproex sodium-coated particles in capsules (Depakote Sprinkle)
J Clin Pharmacol 30: 743-747, 1990

Carroll JE, Brooke MH, DeVivo DC, Shumate JB, Kratz R, Ringel SP, Hagberg JM
Carnitine deficiency: Lack of response to carnitine therapy
Neurology 30: 618-626, 1980

Castro-Gago M, Rodrigo-Saez E, Novo-Rodríguez I, Camíña MF, Rodríguez-Segade S
Hyperaminoacidemia in epileptic children treated with valproic acid
Child Nerv Syst 6: 434-436, 1990

Cederblad G
Fat metabolism following an intravenous bolus dose of a fat emulsion and carnitine
Clin Physiol 4: 159-168, 1984

Cederblad G, Lidstedt S
A method for determination of carnitine in the picomole range
Clin Chim Acta 37: 235-239, 1972

Cerretelli P, Marconi C
l-Carnitine supplementation in humans. The effect of
physical performance
Int J Sports Med 11: 1-14, 1990

Clement MJ, Wallace SJ
Juvenile myoclonic epilepsy
Arch Dis Child 63: 1049-1053, 1988

Coates PM, Hales DE, Stanley CA, Glasgow AM
Systemic carnitine deficiency simulating Reye syndrome
J Pediatr 105: 679-681, 1984

Coude FX, Ravier D, Cathelineau L, Grimber G, Parvy P,
Kamoun PP
A mechanism for valproate-induced hyperammonemia (letter
to editor)
Pediatr Res 15: 974-975, 1981

Coulter DL
Carnitine deficiency: A possible mechanism for valproate
hepatotoxicity
Lancet 1: 689, 1984

Coulter DL
Carnitine, valproate, and toxicity
J Child Neurol 6: 7-14, 1991

Coulter DL, Allen RJ
Secondary hyperammonemia: A possible mechanism for
valproate encephalopathy
Lancet 1: 131-311, 1980

Coulter DL, Allen RJ
Hyperammonemia with valproic acid therapy
J Pediatr 99: 317, 1981

Covanis A, Gupta AK, Jeavons PM
Sodium valproate: monotherapy and polytherapy
Epilepsia 23: 693-720, 1982

Cramer JA, Mattson RH, Bennett DM, Swick CT
Variable free and total valproic acid concentrations in
sole and multi-drug therapy
Ther Drug Monit 8: 411-415, 1986

Criddle DN, Dewar GH, Wathey WB, Woodward B
The effects of novel vasodilatador long chain acyl
carnitine esters in the isolated perfused heart of the
rat
Br J Pharmacol 99: 477-480, 1990

Cullen MJ, Weightman D
The ultrastructure of normal human muscle in relation to
fiber type
J Neurol Sci 25: 43-56, 1975

Chadwick DW
Valproate monotherapy in the management of generalized
and partial seizures
Epilepsia 28 (Suppl 2): S12-S17, 1987

Chadwick DW
Comparison of monotherapy with valproate and other
antiepileptic drugs in the treatment of seizure disorders
Am J Med 84 (Suppl A): 3-6, 1988

Chalmers RA, Stacey TE, Tracey BM, De Sousa C, Roe CR
l-Carnitine insufficiency in disorders of organic acid
metabolism: Response to l-carnitine by patients with
methylmalonic aciduria and 3-hydroxy-3-methylglutaric
aciduria
J Inher Metab Dis 7 (Suppl 2): 109-110, 1984

Chapman A, Keane PE, Meldrum BS, Simiand J, Vernieres JC
Mechanism of anticonvulsivant action of valproate
Prog Neurobiol 19: 315-359, 1982

Chapoy PF, Angelini C, Brown WJ, Stiff JE, Shug AL,
Cederbaum SD
Systemic carnitine deficiency: A treatable inherited
lipid-storage disease presenting as Reye's syndrome
N Engl J Med 303: 1389-1394, 1980

Charnas LR, Bernardini I, Rader D, Hoeg JM, Gahl WA
Clinical and laboratory findings in the oculocerebrorenal
syndrome of Lowe, with special reference to growth and
renal function
N Engl J Med 324: 1318-1325, 1991

Chiarello M, Brevetti G, Policicchio A, Nevola E,
Condorelli M
l-Carnitine in acute myocardial infarction. A multicenter
randomized trial. En Borum (ed.): Clinical aspects of
human carnitine deficiency, pp 242-243, Pergamon Press,
New York, 1986

Cho YO, Leklem JE
In vivo evidence for a vitamin B-6 requirement in
carnitine synthesis
J Nutr 120: 258-265, 1990

Chou JC
Recent advances in the treatment of acute mania
J Clin Psychopharmacol 11: 3-21, 1991

Chun AHC, Hoffman DJ, Friedmann N, Carrigan PJ
Bioavailability of valproic acid under
fasting/non-fasting regimens
J Clin Pharmacol 20: 30-36, 1980

Colton T
En Colton T (ed.): Estadística en Medicina. Salvat
Editores SA, Barcelona, 1979

Dahlstrom KA, Ament ME, Moukarzel A, Vinton NE, Cederblad
G
Low Blood and plasma carnitine levels in children
receiving long-term parenteral nutrition
J Pediatr Gastroenterol Nutr 11: 375-379, 1990

Daoud AS, Zaki M, Shakir R, al Saleh Q
Effectiveness of sodium valproate in the treatment of
Sydenham's chorea
Neurology 40: 1140-1141, 1990

Davis AT
Tissue trimethyllysine biosynthesis and carnitine content
in pregnant and lactating rats fed a lysine-limiting diet
J Nutr 120: 846-856, 1990

Davis AT, Davis PG, Phinney SD
Plasma and urinary carnitine of obese subjects on
very-low-calorie diets
J Am Coll Nutr 9: 261-264, 1990

De Leonardis V, Neri B, Baculli S, Cinelli P
Reduction of cardiac toxicity of anthracyclines by
l-carnitine: Preliminary overview of clinical data
Intern J Clin Pharmacol Res 5: 137-142, 1985

De Sousa C, English NR, Stacey TE, Chalmers RA
Measurement of l-carnitine and acylcarnitines in body
fluids and tissues in children and in adults
Clin Chim Acta 187: 317-328, 1990

Dean JC, Penry JK
Valproate monotherapy in 30 patients with partial
seizures
Epilepsia 29: 140-144, 1988

Decombaz JE, Reffet B, Bloemhard Y
Effect of l-carnitine and stimulated lipolysis on muscle
substrates in the exercising rat
Experientia 46: 457-458, 1990

Del Olmo JA, Castillo M, Rodrigo JM, Aparisi L, Serra
MA, Wassel A, Bixquert M
Effect of l-carnitine upon ammonia tolerance test in
cirrhotic patients
Adv Exp Med Biol 272: 197-202, 1991

Dencker L, Nau H, D'Argy R
Marked accumulation of valproic acid in embryonic
neuroepithelium of the mouse during early organogenesis
Teratology 41: 699-706, 1990

Derlet RW, Albertson TE
Anticonvulsivant modification of cocaine-induced toxicity
in the rat
Neuropharmacology 29: 255-259, 1990

Deufel T
Determination of l-carnitine in biological fluids and tissues
J Clin Chem Clin Biochem 28: 307-311, 1990

DiDonato S, Peluchetti, D, Rimoldi M, Bretagnolio B, Uziel G, Cornelio F
Ketogenic response to fasting in human carnitine deficiencies
Clin Chim Acta 100: 209-214, 1980

DiDonato S, Rimoldi M, Garavaglia B, Uziel G
Propionylcarnitine excretion in propionic acid and methylmalonic acidurias: A cause of carnitine deficiency
Clin Chim Acta 139: 13-21, 1984a

DiDonato S, Pelucchetti D, Rimoldi M, Mora M, Garavaglia B, Finocchiaro G
Systemic carnitine deficiency: Clinical, biochemical, and morphological cure with L-carnitine
Neurology 34: 157-162, 1984b

Dinesen H, Gram L, Andersen T, Dam M
Weight gain during treatment with valproate
Acta Neurol Scand 70: 65-69, 1984

Dreifuss FE, Langer DH
Decreased incidence of valproate-associated hepatic fatality with proper patient selection
Neurology 38 (Suppl 1): 106-110, 1988

Dreifuss FE, Santilli N, Langer DH, Sweeney KP, Moline KA, Menander KB
Valproic acid hepatic fatalities: A retrospective review
Neurology 37: 379-385, 1987

Duan JM, Karmazyn M
Reduction of phosphate-induced dysfunction in rat heart mitochondria by carnitine
Eur J Pharmacol 189: 163-174, 1990

Dubelaar ML, Lucas CM, Hulsmann WC
Acute effect of l-carnitine on skeletal muscle force tests in dogs
Am J Physiol 260: E189-E193, 1991

Dubowitz V
En Dubowitz V (ed.): Muscle biopsy: A practical approach.
Bailliere Tindal, London, 1985

Dulac O, Arthuis M
Open trials with valproate in epilepsy
Epilepsia 25 (Suppl 1): S23-S31, 1984

Dulac O, Steru D, Rey E, Perret A, Arthuis M
Sodium valproate monotherapy in childhood epilepsy
Brain Dev 8: 47-52, 1986

Dunn WA, Aronson NN Jr, England S
The effects of 1-amino-D-proline on the production of
carnitine from exogenous protein-bound trimethyllysine by
the perfused rat liver
J Biol Chem 257: 7948- 7957, 1982

Dupuis RE, Lichtman SN, Pollack GM
Acute valproic acid overdose. Clinical course and
pharmacokinetic disposition of valproic acid and
metabolites
Drug Saf 5: 65-71, 1990

Dyken PR, Durant RH, Minden DB, King DW
Short-term effects of valproate on infantile spasms
Pediatr Neurol 1: 34-37, 1985

Eadie MJ, McKinnon GE, Dunstan PR, MacLaughlin D,
Dickinson RG
Valproate metabolism during hepatotoxicity associated
with the drug
Q J Med 77: 1229-1240, 1990

Egger J, Brett EM
Effects of sodium valproate in 100 children with special
reference to weight
Br Med J 283: 577-581, 1981

Engel AG
Quantitative morphological studies of muscle
En Engel AG, Banker B (eds): Myology, McGraw-Hill, New
York, 1986a, pp 1045-1079

Engel AG
Carnitine deficiency syndromes and lipid storage myopathies
En Engel AG, Banker B (eds): Myology, McGraw-Hill, New York, 1986b, pp 1663-1696

Engel AG, Angelini C
Carnitine deficiency of skeletal muscle associated with lipid storage myopathy: A new syndrome
Science 173: 899-902, 1973

Engel AG, Rebouche CJ
Carnitine metabolism and inborn errors
J Inher Metab Dis 7 (Suppl 1): 38-43, 1984

Engel AG, Rebouche CJ, Wilson DM, Glasgow AM, Romshe CA, Cruse RP
Primary systemic carnitine deficiency: II. Renal handling of carnitine
Neurology 31: 819-825, 1981

Fagher B, Cederblad G, Monti M, Olsson L, Ramussen B
Carnitine and left ventricular function in haemodialysis patients
Scand J Clin Lab Invest 45: 193-198, 1985

Falsini B, Porciatti V, Bolzani R, Marchionni A
Spatial-frequency-dependent changes in the human pattern electroretinogram after acute acetyl-L-carnitine administration
Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 229: 262-266, 1991

Fariello RG
Peroxidative stress and cerebral aging
Int J Clin Pharmacol Res 10: 49-51, 1990

Fernandez E, Pallini R, Gangitano C, Del Fa A, Olivieri Sangiacomo C, Sbriccoli A, Ricoy J, Rossi GF
Studies on the degenerative and regenerative phenomena occurring after transection and repair of the sciatic nerve in rats: effects of acetyl-L-carnitine
Int J Clin Pharmacol Res 10: 85-99, 1990

- Fesler FA
Valproate in combat-related posttraumatic disorder
J Clin Psychiatry 52: 361-364, 1991
- Fisher JE, Nau H, Loscher W
Alterations in the renal excretion of valproate and its metabolites after chronic treatment
Epilepsia 32: 146-150, 1991
- Flueckiger F, Steiner H, Leitinger G, Hoedl S, Deu E
Nodular focal fatty infiltration of the liver in acquired porphyria cutanea tarda
Gastrointest Radiol 16: 237-239, 1991
- Fredow G, Loscher W
Effects of pharmacological manipulation of GABAergic neurotransmission in a new mutant hamster model of paroxysmal dystonia
Eur J Pharmacol 192: 207-219, 1991
- Friel P
Valproyl-CoA: An active metabolite of valproate?
Med Hypotheses 31: 31-32, 1990
- Gadaleta MN, Petruzzella V, Fracasso F, Fernandez Silva P, Cantatore P
Acetyl-l-carnitine increases cytochrome oxidase subunit I mRNA content in hypothyroid rat liver
FEBS-Lett 277: 191-193, 1990
- Gal P, Oles KS, Gilman JT, Weaver R
Valproic acid efficacy, toxicity, and pharmacokinetics in neonates with intractable seizures
Neurology 36: 467-471, 1988
- Ganick DJ, Sunder T, Finley JL
Severe hematologic toxicity of valproic acid. A report of four patients
Am J Pediatr Hematol Oncol 12: 80-85, 1990

Garcia-Rojas JF, Mangas-Rojas A, Barba-Chacón A, García-Osle M, Zamora-Madaria E
Remisión clínica de una enfermedad de Cushing mediante tratamiento combinado con valproato sódico y bromocriptina
Rev Clin Esp 188: 37-40, 1991

Gasparetto A, Corbucci GG, De Blasi RA, Antonelli M, Bagiella E, D'iddio S, Trevisani C
Influence of acetyl-l-carnitine infusion on haemodynamic parameters and survival of circulatory-shock patients
Int J Clin Pharmacol Res 11: 83-92, 1991

Gatti G, Crema F, Attardo-Parinello G, Fratino P, Aguzzi F, Perucca E
Serum protein binding of phenytoin and valproic acid in insulin-dependent diabetes
Ther Drug Monit 9: 389-391, 1987

Geber N, Dickinson RG, Harland RC, Lynn RK, Houghton D, Antonias JI, Schimschock JC
Reye-like syndrome associated with valproic acid
J Pediatr 95: 142-143, 1979

Giovannini M, Agostoni C, Salari PC
Is carnitine essential in children?
J Int Med Res 19: 88-102, 1991

Goa KL, Brogden RN
l-Carnitine: A preliminary review of its pharmacokinetics, and its therapeutic use in ischaemic cardiac disease and primary and secondary carnitine deficiencies in relationship to its role in fatty acid metabolism
Drugs 34: 1-24, 1987.

Goety CG, Tanner CM, Cohen JA, Thelen JA, Carroll VS, Klawans HL, Fariello RG
l-Acetyl-caritine in Huntington's disease: double-blind placebo controlled crossover study of drug effects on movement disorder and dementia (letter)
Mov Disord 5: 263-265, 1990

Goldstein JL, Kita T, Brown MS
Defective lipoprotein receptors and atherosclerosis
N Engl J Med 309: 288-292, 1983

Granneman GR, Marriot TB, Wang SI, Sennello LT, Hagen NS, Sonders RC

Aspects of the dose dependent metabolism of valproic acid
En Levy RH et al (eds.): Metabolism of antiepileptic drugs, Raven Press, New York, 1984, pp 97-104

Guarnieri G, Toigo G, Crapesi L

Carnitine metabolism in chronic renal failure
Kidney Int 32 (Supl 22): 116-127, 1987

Guder WG, Wagner S

The role of the kidney in carnitine metabolism
J Clin Chem Clin Biochem 28: 347-350, 1990

Gudjonsson H, Li BUK, Shug AL, Olsen WA

In vivo studies of intestinal carnitine absorption in rats

Gastroenterology 88: 1880-1887, 1985

Gugler R, Mueller G

Plasma protein binding of valproic acid in healthy subjects and in patients with renal disease

Br J Clin Pharmacol 5: 441-446, 1978

Gugler R, Schell A, Eichelbaum M, Froescher W, Schulz H-U

Disposition of valproic acid in man

Eur J Clin Pharmacol 12: 125-132, 1977

Gugler R, von Unruh GE

Clinical pharmacokinetics of valproic acid

Clin Pharmacokinet 5: 67-83, 1980

Gupta AK

"Perming" effects associated with chronic valproate therapy

Br J Clin Pract 42: 75-77, 1988

Guzman M, Saborido A, Castro J, Molano F, Megias A

Treatment with anabolic steroids increases the activity of the mitochondrial outer carnitine palmitoyltransferase in rat liver and fast-twitch muscle

Biochem Pharmacol 41: 833-835, 1991

Haas R, Stumpf DA, Parks JK, Eguren L
Inhibitory effects of sodium valproate on oxidative phosphorylation
Neurology 31: 1473-1475, 1981

Hall K, Otten N, Irvine-Meek J, Leroux M, Budnick D, Verma M, Seshia SS
First-dose and steady-state pharmacokinetics of valproic acid in children with seizures
Clin Pharmacokinet 8: 447-455, 1988

Hall K, Otten N, Johnston B, Irvine-Meek J, Leroux M, Seshia SS
A multivariable analysis of factors governing the steady-state pharmacokinetics of valproic acid in 52 young epileptics
J Clin Pharmacol 25: 261-268, 1985

Hamilton JJ, Hahn P
Carnitine and carnitine esters in rat bile and duodenal fluid
Can J Physiol Pharmacol 65: 1816-1820, 1987

Hamilton JW, Ulysses B, Li K, Austin L, Shug AL, Olsen WA
Carnitine transport in human intestinal biopsy specimens. Demonstration of an active transport system
Gastroenterology 91: 10-16, 1986

Hanigan W, Frow E
Levels of sodium valproate following acute oral administration
Clin Pharmacol Ther 37: 201, 1985

Harrell HL Jr
l-Carnitine for leg ulcers (letter)
Ann Intern Med 113: 412, 1990

Hassan MN, Laljee HCK, Parsonage MJ
Sodium valproate in the treatment of resistant epilepsy
Acta Neurol Scand 54: 209-218, 1976

Hayasaka K, Takahashi I, Kobayashi Y, Iinuma K, Narisawa K, Tada K
Effects of valproate on biogenesis and function of liver mitochondria
Neurology 36: 351-356, 1986

Herrera Carranza J, Alonso Díaz R
Aspectos farmacocinéticos y farmacéuticos de la carnitina
Pharmaklinik 3: 83-89, 1989

Hjelm M, de Silva LVK, Seakins JWT, Oberholzer VG
Evidence of inherited urea cycle defect in a case of fatal valproate toxicity
Br Med J 292: 23-24, 1986

Hoepfner TJ
The anticonvulsant valproic acid concentrates in the olfactory bulb: selective laminar localization
Brain Res 532: 326-328, 1990

Hoffman AS, Feinberg TE
Successful treatment of age-related chorea with sodium valproate
J Am Geriatr Soc 38: 56-58, 1990

Ieiri I, Higuchi S, Hirata K, Yamada H, Aoyama T
Analysis of the factors influencing anti-epileptic drug concentrations: Valproic acid
J Clin Pharm Ther 15: 351-363, 1990

Imperato A, Scrocco MG, Ghirardi O, Ramacci MT, Angelucci L
In vivo probing of the brain cholinergic system in the aged rat. Effects of long-term treatment with acetyl-L-carnitine
Ann NY Acad Sci 621: 90-97, 1991

International Committee of Medical Journals Editors
Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals
N Engl J Med 324: 424-428, 1991

Ito M, Ikeda Y, Arnez JG, Finocchiaro G, Tanaka K
The enzymatic basis for the metabolism and inhibitory
effects of valproic acid: Dehydrogenation of
valproyl-CoA by 2-methyl-branched-chain acyl-CoA
dehydrogenase
Biochim Biophys Acta 1034: 213-218, 1990

Ito M, Okuno T, Hattori H, Fujii T, Mikawa H
Vitamin B6 and valproic acid in treatment of infantile
spasms
Pediatr Neurol 7: 91-96, 1991

Itoh S, Yamada Y, Matsuo S, Saka M, Ichinoe A
Sodium valproate-induced liver injury
Am J Gastroenterol 77: 875-879, 1982

Jager-Roman E, Ponniah P, Lambert JB, Buchanan N
Free sodium valproate monitoring
Br J Clin Pharmacol 13: 452-454, 1982

Jakobs BS, Wanders RJ
Conclusive evidence that very-long-chain fatty acids
are oxidized exclusively in peroxisomes in human skin
fibroblasts
Biochim Biophys Res Commun 178: 842-847, 1991

Janssen F, Rambeck B, Schnabel R
Acute valproate intoxication with fatal outcome in an
infant
Neuropediatrics 16: 235-238, 1985

Jeavons PM
Non-dose related side effects of valproate
Epilepsia 25 (Suppl 1): S50-S55, 1984

Jeavons PM, Bishop A, Harding GFA
The prognosis of photosensitivity epilepsy
Epilepsia 27: 569-575, 1986

Jeavons PM, Clark JE, Maheshwari MC
Treatment of generalized epilepsies of childhood and
adolescence with sodium valproate (Epilim)
Develop Med Child Neurol 19: 9-25, 1977

Ji LL, Miller RH, Nagle FJ, Lardy HA, Stratman FW
Aminoacid metabolism during exercise in trained rats:
The potential role of carnitine in the metabolic fate
of branched chain aminoacids
Metabolism 36: 748-752, 1987

Jimenez-Jimenez FJ, Roldan A, Zancada F, Molina-Arjona
JA, Fernandez-Ballesteros A, Santos J
Spinal myoclonus: successful treatment with the
combination of sodium valproate and
L-5-hydroxytryptophan
Clin Neuropharmacol 14: 186-190, 1991

Kamikawa T, Suzuki Y, Kobayashi A, Hayashi H, Masumura
Y
Effects of l-carnitine on exercise tolerance in
patients with stable angina pectoris
Japanese Heart J 25: 587-597, 1984

Kamper AM, Valentijn RM, Strickler BH, Purcell
Cutaneous vasculitis induced by sodium
Lancet 337: 497-498, 1991

Kandrotas RJ, Love JM, Gal P, Oles
The effect of hemodialysis and hemoperfusion on serum
valproic acid
Neurology 40: 1456-1458, 1990

Kang YS, Terasaki T, Tsuji A
Acidic drug transport in vivo through the blood-brain
barrier. A role of the transport carrier for
monocarboxylic acids
J Pharmacobiodyn 13: 158-163, 1990

Karas BJ, Wilder BJ, Hammond EJ, Bauman AW
Valproate tremors
Neurology 32: 428-432, 1982

Karpati G, Carpenter S, Engel AG, Watters G, Allen J,
Rothman S, Klassen G, Mamer OA
The syndrome of systemic carnitine deficiency:
Clinical, morphologic, biochemical, and
pathophysiologic
Neurology 25: 16-24, 1975

- Kashfi K, Cook
Malonyl-CoA inhibits proteolysis of carnitine
Biochim Biophys Res Commun 178: 600-605, 1991
- Kastner T, Friedman DL, Plummer AT, Ruiz MQ, Henning D
Valproic acid for the treatment of children with mental
retardation and mood symptomatology
Pediatrics 86: 467-472, 1990
- Kay JDS, Hilton-Jones D, Hyman N
Valproate toxicity and ornithine carbamoyl transferase
deficiency
Lancet 2: 1283-1284, 1986
- Keane PE, Simiand J, Moore M
Comparison of the pharmacological and biochemical
profiles of valproic acid (VPA) and its cerebral
metabolite (2-en-VPA) after oral administration in mice
Methods Find Exp Clin Pharmacol 7: 83-86, 1985
- Kelly KM, Gross RA, Macdonald RL
Valproic acid selectively reduces the low-threshold (T)
calcium current in rat nodose neurons
Neurosci Lett 116: 233-238, 1990
- Kesterton JW, Granneman GR, Machinnist JM
The hepatotoxicity of valproic acid and its metabolites
in rats. I. Toxicologic, biochemical and
histopathologic studies
Hepatology 4: 1143-1152, 1982
- Kimura S, Amemiya F
Brain and liver pathology in a patient with carnitine
deficiency
Brain Dev 12: 436-439, 1990
- Kispal G, Cseko J, Alkonyi I, Sandor A
Isolation and characterization of carnitine
acetyltransferase from *S. cerevisiae*
Biochim Biophys Acta 1085: 217-222, 1991
- Kispal G, Melegh B, Sandor A
Effect of insulin and glucagon on the uptake of
carnitine by perfused rat liver
Biochim Biophys Acta 929: 226-228, 1987

Klepetko W, Lohninger A, Wisser W, Mueller MR,
Khunl-Brady G, Windisch A, Eckersberger F, Wolner E
Pulmonary surfactant in bronchoalveolar lavage after
canine lung transplantation: Effect of l-carnitine
application
J Thorac Cardiovasc Surg 99: 1048-1058, 1990

Klotz U, Antonin KH
Pharmacokinetics and bioavailability of sodium valproate
Clin Pharmacol Ther 21: 736-743, 1977

Klotz U, Rapp T, Muller WA
Disposition of valproic acid in patients with liver
disease
Eur J Clin Pharmacol 13: 55-60, 1978

Knott C, Reynolds F
The place of saliva in antiepileptic drug monitoring
Ther Drug Monit 6: 35-41, 1984

Kooistra MP, Struyvenberg A, Van Es A
The response to recombinant human erythropoietin in
patients with the anemia of end-stage renal disease is
correlated with serum carnitine levels (letter)
Nephron 57: 127-128, 1991

Kotlarek F, Gross-Selbeck G, Kellermann K, Pothmann R,
von Bernuth H
A controlled study of sodium valproate therapy in
infantile spasms
Epilepsia 28: 194-199, 1987

Kreuz W, Linde R, Funk M, Meyer-Schrod R, Foll E,
Nowak-Gottl U, Jacobi G, Vigh Z, Scharrer I
Induction of von Willebrand disease type I by valproic
acid (letter)
Lancet 335: 1350-1351, 1990

Kubota T, Jibiki I, Hirose S, Yamaguchi N
Comparative experimental study of
antiepileptics-regional specificity of antiepileptic
action of carbamazepine, phenobarbital and valproate
sodium
Brain Dev 12: 503-508, 1990

Kuhara T, Inoue Y, Matsumoto M, Shinka T, Matsumoto I, Kuwahara N, Sakura N

Markedly increased omega-oxidation of valproate in fulminant hepatic failure

Epilepsia 31: 214-217, 1990

Kusunoki M, Shoji Y, Ikeuchi H, Yamagata K, Yamamura T, Utsunomiya J

Usefulness of valproate sodium for treatment of incontinence after ileoanal anastomosis

Surgery 107: 311-315, 1990

Laschi R, Badiali-de-Giorgi L, Bonvicini F, Centurione L

Ultrastructural aspects of aging rat hippocampus after long-term administration of acetyl-L-carnitine

Int J Clin Pharmacol Res 10: 59-63, 1990

Laub MC

Nutritional influence on serum ammonia in young patients receiving sodium valproate

Epilepsia 27: 55-59, 1986

Laub N, Paetzke-Brunner I, Jaeger G

Serum carnitine during valproic acid therapy

Epilepsia 27: 559-562, 1986

Lenn NJ, Ellis WG, Washburn ER, Ruebner R

Fatal hepatocerebral syndrome in siblings discordant for exposure to valproate

Epilepsia 31: 578-583, 1990

Lennon DLF, Shrago ER, Madden M, Nagle FJ, Hanson P

Dietary carnitine intake related to skeletal muscle and plasma carnitine concentrations in adult men and women

Am J Clin Nutr 43: 234-238, 1986

Levy RH, Cenraud B, Loiseau P, Akbaraly R,

Brachet-Lierman A, Guyot M, Gomeni R, Morselli PL

Meal-dependent absorption of enteric-coated sodium valproate

Epilepsia 21: 273-280, 1980

Levy RH, Lai AA
Valproate: Absorption, distribution, and excretion
En Woodbury DM et al (eds.): Antiepileptic drugs, Raven
Press, New York, 1982, pp 555-565

Lewis JH, Zimmerman HJ, Garrett CT, Rosenberg E
Valproate-induced hepatic steatogenesis in rats
Hepatology 2: 870-873, 1982

Li BU, Bummer PM, Hamilton JW, Gudjonsson H, Zografis G,
Olsen WA
Uptake of l-carnitine by rat jejunal brush border
microvillous membrane vesicles. Evidence of passive
diffusion
Dig Dis Sci 35: 333-339, 1990

Li J, Norwood DL, Mao LF, Schulz H
Mitochondrial metabolism of valproic acid
Biochemistry 30: 388-394, 1991

Liedtke AJ
Metabolism of the ischemic heart: alterations in fatty
acid intermediates and role of carnitine
En Kaiser et al. (eds): Carnitine, its role in lung and
heart disorders, pp. 100-111, Karger, Munich, 1987

Lindboe CF, Presthus J
Effects of denervation, immobilization and cachexia on
fibre size in the anterior tibial muscle of the rat
Acta Neuropathol 66: 42-51, 1985

Lindstedt G, Lindstedt S
Cofactor requirements of gamma-butyrobetaine
hydroxylase from rat liver
J Biol Chem 245: 4178-4187, 1970

Lohninger A, Bock P, Dadak C, Feiks A, Kaiser E
Effect of carnitine on foetal rat lung dipalmitoyl
phosphatidylcholine content and lung morphology
J Clin Chem Clin Biochem 28: 313-318, 1990

Loiseau P
Rational use of valproate: Indications and drug regimen
in epilepsy
Epilepsia 25 (Suppl 1): S65-S72, 1984

- Loscher W
Pharmacokinetics of valproate in man, dog, rat and mouse
J Pharmacol Exp Ther 204: 255-261, 1978
- Loscher W, Bohme G, Schafer H, Kochen W
Effects of metabolites of valproic acid on the metabolism of GABA in brain nerve endings
Neuropharmacology 20: 1187-1192, 1981
- Loscher W, Nau H
Distribution of valproic acid and its metabolites in various brain areas of dogs and rats after acute and prolonged treatment
J Pharmacol Exp Ther 226: 845-854, 1983
- Loscher W, Nau H, Siemens H
Penetration of valproate and its active metabolites into cerebrospinal fluid of children with epilepsy
Epilepsia 29: 311-316, 1988
- Luder AS, Parks JK, Frerman F, Parker WD Jr
Inactivation of beef brain alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex by valproic acid and valproic acid metabolites. Possible mechanism of anticonvulsivant and toxic actions
J Clin Invest 86: 1574-1581, 1990
- Maccari F, Arseni A, Chiodi P, Ramacci MT, Angelucci L
Levels of carnitines in brain and other tissues of rats of different ages: Effect of acetyl-l-carnitine administration
Exp Gerontol 25: 127-134, 1990
- Marbury TC, Lee CS, Bruni J, Wilder BJ
Haemodialysis of valproic acid in uremic patients
Dialysis and Transplantation 9: 61-64, 1980
- Marciani P, Lindi C, Marzo A, Arrigoni-Martelli E, Cardace G, Esposito G
l-Carnitine and carnitine ester transport in the rat small intestine
Pharmacol Res 23: 157-162, 1991

- Marchevsky AM, Gil J, Jeanty H
Computerized interactive morphometry in pathology:
Current instrumentation and methods
Hum Pathol 18: 320-331, 1987
- Marescaux C, Warter JM, Micheletti G, Rumbach L,
Coquillat G, Kurtz D
Stuporous episodes during treatment with sodium
valproate: report of seven cases
Epilepsia 23: 297-305, 1982
- Margraf JW, Dreifuss FE
Amenorrhoea following initiation of therapy with
valproic acid
Neurology 31: 159, 1981
- Marini AM, Zaret BS, Beckner RR
Hepatic and renal contributions to valproic
acid-induced hyperammonaemia
Neurology 38: 365-371, 1988
- Markowska AL, Olton DS
Dietary acetyl-l-carnitine improves spatial behaviour
of old rats
Int J Clin Pharmacol Res 10: 65-68, 1990
- Martin G, Durozard D, Besson G, Baverel G
Effect of the antiepileptic drug sodium valproate on
glutamine and glutamate metabolism in isolated human
kidney tubules
Biochim Biophys Acta 1033: 261-266, 1990
- Martinez-Frias ML
Clinical manifestation of prenatal exposure to valproic
acid using case report and epidemiologic information
Am J Med Genet 37: 277-282, 1990
- Mathew NT, Ali S
Valproate in the treatment of persistent chronic daily
headache. An open label study
Headache 31: 71-74, 1991

Matsuishi T, Hirata K, Terasawa K, et al
Successful carnitine treatment in two siblings having
lipid storage myopathy with hypertrophic cardiomyopathy
Neuropediatrics 16: 6-12, 1985

Matsumoto K, Yamada Y, Takahashi M, Todoroki T,
Mizoguchi K, Misaki H, Yuki H
Fluorometric determination of carnitine in serum with
immobilized carnitine dehydrogenase and diaphorase
Clin Chem 36: 2072-2076, 1990

Matsuyuki M
Mitochondrial changes and carnitine status in fasting
rats
Acta Paediatr Jpn 32: 443-448, 1990

Mauri MC, Percudani M, Regazzetti MG, Altamura AC
Alternative prophylactic treatments to lithium in
bipolar disorders
Clin Neuropharmacol 13 (Suppl 1): S90-S96, 1990

Mayatepek E, Kurczynsky TW, Hoppel CL, Gunning WT
Carnitine deficiency associated with ornithine
transcarbamylase deficiency
Pediatr Neurol 7: 196-199, 1991

Mazzocchio R, Schieppati M, Scarpini C, Rossi A
Enhancement of recurrent inhibition by intravenous
administration of l-acetylcarnitine in spastic patients
J Neurol Neurosurg Psychiatry 53: 321-326, 1990

McFarland BH, Miller MR, Straumfjord AA
Valproate in the older manic patient
J Clin Psychiatry 51: 479-481, 1990

McGarry JD, Foster DW
An improved and simplified radioisotope assay for the
determination of free and esterified carnitine
J Lipid Res 17: 277-285, 1976

McGarry JD, Foster DW
Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone
body production
Annu Rev Biochem 49: 395-399, 1980

- McGarry JD, Leatherman GF, Foster DW
Carnitine palmitoyltransferase I: The site of inhibition of hepatic fatty acid oxidation by malonyl-CoA
J Biol Chem 253: 4128-4136, 1978
- McGarry JD, Sen A, Esser V, Woeltje KF, Weis B, Foster DW
New insights into the mitochondrial carnitine palmitoyltransferase enzyme system
Biochimie 73: 77-84, 1991
- Melegh B, Kerner J, Acsadi G, Lakatos J, Sandor A
l-Carnitine replacement therapy in chronic valproate treatment
Neuropediatrics 21: 40-43, 1990a
- Melegh B, Kerner J, Jaszai V, Bieber LL
Differential excretion of xenobiotic acyl-esters of carnitine due to administration of pivampicillin and valproate
Biochem Med Metab Biol 43: 30-38, 1990b
- Michalak A, Lambert MA, Dallaire L, Melancon SB, Laframboise R, Lemieux B, Qureshi IA
Hypocarnitinemia in patients affected by a primary defect of ammonia metabolism treated with sodium benzoate
Diabete Metab 16: 226-233, 1990
- Miller JW, Ferrendelli JA
Eyelid twitching seizures and generalized tonic-clonic convulsions: a syndrome of idiopathic generalized epilepsy
Ann Neurol 27: 334-336, 1990
- Miller KM, Small DM
Surface-to-core and interparticle equilibrium distribution of triglyceride-rich lipoprotein lipids
J Biol Chem 258: 13772, 1983
- Millington DS, Bohan TP, Roe CR, Yergey AL, Liberato DJ
Valproylcarnitine: A novel drug metabolite identified by fast atom bombardment and thermospray chromatography-mass spectrometry
Clin Chim Acta 145: 69-76, 1985

- Milton JS, Tsokos JO
Estadística para Biología y Ciencias de la Salud.
Interamericana McGraw-Hill, Madrid, 1987
- Mitchell P, Cullen MJ
Valproate for rapid-cycling unipolar affective disorder
J Nerv Ment Dis 179: 503-504, 1991
- Mizobuchi M, Miyake M, Sano A, Kakimoto Y
High concentrations of free trimethyllysine in red
blood cells
Biochim Biophys Acta 1033: 119-123, 1990
- Molstad P, Bohmer T
Transport of L-carnitine induced by prednisolone in an
established cell line (ccl 27). A possible explanation
of the therapeutic effect of glucocorticoids in
muscular carnitine deficiency syndrome
Biochim Biophys Acta 585: 94-99, 1979
- Morgan-Hughes JA
The mitochondrial myopathies
En Engel AG, Banker B (eds): Myology, McGraw-Hill, New
York, 1986, pp 1709-1743
- Mori T, Tsuchiyama A, Nagai K, Nagao M, Oyanagi K,
Tsugawa S
A case of carbamylphosphate synthetase-I deficiency
Eur J Pediatr 149: 272-274, 1990
- Moriñigo A, Martin J, Gonzalez S, Mateo I
Treatment of resistant schizophrenia with valproate and
neuroleptic drugs
Hillside J Clin Psychiatry 11: 199-207, 1989
- Morris N, Barr RD, Pai KRM, Kelton JG
Valproic acid and thrombocytopenia
Can Med Assoc J 125: 63-64, 1981
- Moser AE, Singh I, Brown FR
The cerebro-hepato-renal (Zellweger) syndrome:
Increased levels and impaired degradation of
very-long-chain fatty acids and their use in prenatal
diagnosis
N Engl J Med 310: 1141-1145, 1984

- Murakami K, Sugimoto T, Nishida N, Woo M, Araki A, Kobayashi Y, Sakane Y
Carnitine metabolism and morphometric change of liver mitochondria in valproate-treated rats
Neuropediatrics 21: 187-190, 1990
- Murphy JV, Marquardt KM, Shug AL
Valproic acid associated abnormalities of carnitine metabolism
Lancet 1: 820, 1985
- Nachlas MM, Walker DG, Seligman AM
A Histochemical method for the demonstration of diphosphopyridine nucleotide diaphorase
J Biophys Biochem Cytol 4: 29-40, 1958
- Nagaki S, Kato N, Minatogawa Y, Higuchi T
Effects of anticonvulsivants and gamma-aminobutyric acid (GABA)-mimetic drugs on immunoreactive somatostatin and GABA contents in the rat brain
Life Sci 46: 1587-1595, 1990
- Nau H, Helge H, Luck W
Valproic acid in the perinatal period: Decreased maternal serum protein binding results in fetal accumulation and neonatal displacement of the drug and some metabolites
J Pediatr 104: 627-634, 1984
- Nau H, Krauer B
Serum protein binding of valproic acid in fetus-mother pairs throughout pregnancy: Correlation with oxytocin administration and albumin and free fatty acid concentrations
J Clin Pharmacol 26: 215-221, 1986
- Neri B, Torcia MG, Comparini T, Guidi S, Miliani A
Creatin kinase-MB: a non-invasive test monitoring acute adriamycin and daunomycin cardiotoxicity
J Exp Clin Cancer Res 2: 41-45, 1983
- Netzloff ML, Kohrman AF, Jones MA, Emaus RK, Beiber LL, Di Mauro S
Carnitine deficiency associated with renal Fanconi syndrome
J Neuropathol Exp Neurol 40: 351, 1981

- Nilsson M, Hansson E, Ronnback L
Transport of valproate and its effects on GABA uptake
in astroglial primary culture
Neurochem Res 15: 763-767, 1990
- Nilsson-Ehle P, Garfinkel AS, Schotz MC
Lipolytic enzymes and plasma lipoprotein metabolism
Rev Biochem 49: 667-688, 1980
- Nishida N, Sugimoto T, Araki A, Woo M, Sakane Y,
Kobayashi Y
Carnitine metabolism in valproate-treated rats: The
effect of l-carnitine supplementation
Pediatr Res 22: 500-503, 1987
- Noel H, Parvin R, Pance SV
Butyribetaine in tissues and serum of fed and starved
rats determined by an enzymatic radioisotopic procedure
Biochem J 220: 701-706, 1984
- Norusis MJ
En Norusis MJ (ed.): SPSS/PC+, VER 4.0 for the IBM
PC/XT/AT and PS/2. SPSS Inc, Chicago, 1990
- Ohtani Y, Endo F, Matsuda I
Carnitine deficiency and hyperammonemia associated
with valproic acid therapy
J Pediatr 101: 782-785, 1982
- Ohtani Y, Nishiyama S, Matsuda I
Renal handling of free and acylcarnitine in secondary
carnitine deficiency
Neurology 34: 977-979, 1984
- Ohtsuka Y, Griffith OW
l-Carnitine protection in ammonia intoxication. Effect
of aminocarnitine on carnitine-dependent metabolism and
acute ammonia toxicity
Biochem Pharmacol 41: 1957-1961, 1991
- Okada S, Nonaka I, Chou SM
Muscle fiber type differentiation and satellite cell
populations in normally grown and neonatally denervated
muscles in the rat
Acta Neuropathol 65: 90-98, 1984

- Ontko JA
Lipid metabolism in muscle
En Engel AG, Banker B (eds): Myology, McGraw-Hill, New York, 1986, pp 697-720
- Opala G, Winter S, Vance C, Vance H, Hutchison HT, Linn LS
The effect of valproic acid on plasma carnitine levels
Am J Dis Child 145: 999-1001, 1991
- Orr JM, Farrell K, Abbott FS, Ferguson S, Godolphin WJ
The effects of peritoneal dialysis on the single dose and steady state pharmacokinetics of valproic acid in an uremic epileptic child
Eur J Clin Pharmacol 24: 387-390, 1983
- O'Connor JE, Costell M
New roles of carnitine metabolism in ammonia cytotoxicity
Adv Exp Med Biol 272: 183-195, 1991
- O'Hagan DT, Critchley H, Farraj NF, Fisher AN, Johansen BR, Davis SS, Illum L
Nasal absorption enhancers for biosynthetic human growth hormone in rats
Pharm Res 7: 772-776, 1990
- Pande SV
A mitochondrial carnitine acylcarnitine translocase system
Proc Natl Acad Sci USA 72: 883-896, 1975
- Pande SV, Parvin R
Characterization of carnitine acylcarnitine translocase system of heart mitochondria
J Biol Chem 251: 6683-6701, 1976
- Pedersen B
Intoxication after large overdose of sodium valproate
Br J Clin Pract (Symposium Supplement) 18: 152-153, 1982
- Pedersen B, Angelo HR, Jelert H
Long-term study of valproate and its metabolites in epileptic patients
Acta Neurol Scand 70: 250-251, 1984

- Pepine CJ
The therapeutic potential of carnitine in
cardiovascular disorders
Clin Ther 13: 1-21, 1991
- Perucca E, Gatti G, Frigo GM, Crema A
Pharmacokinetics of valproic acid after oral and
intravenous administration
Br J Clin Pharmacol 5: 313-318, 1978
- Pettorossi VE, Brunetti O, Carobi C, Della Torre G,
Grassi S
l-Acetylcarnitine enhances functional muscle
re-innervation
Drugs Exp Clin Res 17: 119-125, 1991
- Phillips GD, Odgers CL
Parenteral nutrition: Current status and concepts
Drugs 23: 276-323, 1982
- Pintos-Morell G, Haas R, Prodanos C, Di Mauro S, Nyhan
WL
Cytochrome c oxidase deficiency in muscle with
dicarboxylic aciduria and renal tubular acidosis
J Child Neurol 5: 147-152, 1990
- Pollack GM, McHugh WB, Gengo FM, Ermer JC, Shen DD
Accumulation and washout kinetics of valproic acid and
its active metabolites
J Clin Pharmacol 26: 668-676, 1986
- Post RM
Non-lithium treatment for bipolar disorders
J Clin Psychiatry 51 Suppl: 9-19, 1990
- Postiglione A, Cicerano U, Soricelli A, De Chiara S,
Gallotta G, Salvatore M, Mancini M
Cerebral blood flow in patients with chronic
cerebrovascular disease: effect of acetyl-l-carnitine
Int J Clin Pharmacol Res 10: 129-132, 1990
- Powell-Jackson PR, Tredger JM, Williams R
Hepatotoxicity to sodium valproate: A review
Gut 25: 673-681, 1984

Prats JM, Garaizar C, Rua MJ, Garcia-Nieto ML, Madoz P
Infantile spasms treated with high doses of sodium
valproate: Initial response and follow-up
Dev Med Child Neurol 33: 617-625, 1991

Primeau F, Fontaine R, Beauclair L
Valproic acid and panic disorder
Can J Psychiatry 35: 248-250, 1990

Prockop LD, Engel WK, Shug AL
Nearly fatal muscle carnitine deficiency with full
recovery after replacement therapy
Neurology 33: 1629-1633, 1983

Puca FM, Genco S, Specchio LM, Brancasi B, D'Ursi R,
Prudenzano A, Miccoli A, Scarcia R, Martino R, Savarese
R
Clinical pharmacodynamics of acetyl-l-carnitine in
patients with Parkinson's disease
Int J Clin Pharmacol Res 10: 139-143, 1990

Pugh CB, Garnett WR
Current issues in the treatment of epilepsy
Clin Pharm 10: 335-358, 1991

Rahkila P, Soimajrvi J, Karvinen E, Vihko V
Lipid metabolism during exercise: II. Respiratory
exchange ratio and muscle glycogen content during 4 h
bicycle ergometry in two groups of healthy men
Eur J Appl Physiol 44: 245-256, 1980

Ramsay RR, Tubbs PK
The mechanism of fatty acid uptake by heart
mitochondria: An acylcarnitine-carnitine exchange
FEBS Lett 54: 21-23, 1975

Rapeport WG, Mendelow AD, French G, MacPherson P,
Teasdale E, Agnew E, Thompson GG, Brodie MJ
Plasma protein-binding and CSF concentrations of
valproic acid in man following acute oral dosing
Br J Clin Pharmacol 16: 365-369, 1983

Raskin NH
Modern pharmacotherapy of migraine
Neurol Clin 8: 857-865, 1990

Rebouche CJ
Carnitine transport and tissue carnitine accretion in rats
Biochim Biophys Acta 1033: 111-113, 1990

Rebouche CJ, Chenard CA
Metabolic fate of dietary carnitine in human adults: Identification and quantification of urinary and fecal metabolites
J Nutr 121: 539-546, 1991

Rebouche CJ, Engel AG
Carnitine metabolism and deficiency syndromes
Mayo Clin Proc 58: 533-540, 1983

Rebouche CJ, Engel AG
Tissue distribution of carnitine biosynthetic enzymes in man
Biochim Biophys Acta 630: 22-29, 1980a

Rebouche CJ, Engel AG
Significance of renal gamma-butyrobetaine hydroxylase for carnitine biosynthesis in man
J Biol Chem 255: 8700-8717, 1980b

Rebouche CJ, Engel AG
Kinetic compartmental analysis of carnitine metabolism in the human carnitine deficiency syndromes: Evidence for alterations in tissue carnitine transport
J Clin Invest 73: 857-867, 1984a

Rebouche CJ, Mack DL, Edmonson PF
l-Carnitine dissimilation in the gastrointestinal tract of the rat
Biochemistry 23: 6422-6426, 1984b

Regitz V, Shug AL, Fleck E
Defective myocardial carnitine metabolism in congestive heart failure secondary to dilated cardiomyopathy and to coronary, hypertensive and valvular heart diseases
Am J Cardiol 65: 755-760, 1990

Rettie AE, Rettenmeier AW, Howald WN, Baillie TA
Cytochrome P-450-catalyzed formation of delta 4-VPA, a
toxic metabolite of valproic acid
Science 235: 890-893, 1987

Riva R, Zaccara G, Albani F, Galli G, Campostrini R,
Paganini M, Baruzzi A
Effects of acute valproic acid administration on
carnitine plasma concentrations in epileptic patients
Epilepsy Res 8: 149-152, 1991

Robert E, Rosa F
Valproate and birth defects
Lancet 2: 1142, 1983

Robson RH, Anderton JL, Prescott LF
Disposition of sodium valproate in renal failure. The
place of sodium valproate in the treatment of epilepsy
RSM International Congress and Symposium Series 30:
159-164, 1980

Rodrigues B, Ross JR, Farahbakshian S, McNeill JH
Effects of in vivo and in vitro treatment with
l-carnitine on isolated hearts from chronically
diabetic rats
Can J Physiol Pharmacol 68: 1085-1092, 1990

Rodriguez-Segade S, Alonso-de-la-Peña C, Paz JM, Novoa
D
Carnitine deficiency in haemodialysed patients
Clin Chim Acta 159: 249-256, 1986

Roe CR, Hoppel CL, Stacey TE, Chalmers RA, Tracey BM
Metabolic response to carnitine in methylmalonic
aciduria
Arch Dis Child 58: 916-920, 1983

Roe CR, Millington DS, Kahler SG, Kodo N, Norwood DL
Carnitine homeostasis in the organic acidurias
Prog Clin Biol Res 321: 383-402, 1990

Roe CR, Millington DS, Maitby DA, Bohan TP, Hoppel CL
l-Carnitine enhances excretion of propionyl coenzyme A
as propionylcarnitine in propionic acidemia
J Clin Invest 73: 1785-1788, 1984

Roodhooft AM, van Dam K, Haentjens D, Verpooten GA, van Acker KJ

Acute sodium valproate intoxication: Occurrence of renal failure and treatment with haemoperfusion-haemodialysis

Eur J Pediatr 149: 363-364, 1990

Rossi CS, Siliprandi CN

Effect of carnitine on serum HDL-cholesterol: Report of two cases

Johns Hopkins Med J 150: 51-54, 1982

Round JM, Matthews Y, Jones DA

A quick simple and reliable method for ATPase in human muscle preparations

Histochem J 12: 707-709, 1980

Rowan AJ, Meijer JWA, de Beer-Pawlikowsky N, van der Gesst P, Meinardi H

Valproate-ethosuximide combination therapy for refractory absence seizures

Arch Neurol 40: 797-802, 1983

Rozas I, Camiña MF, Paz JM, Alonso C, Castro Gago M, Rodriguez Segade S

Effects of acute valproate administration on carnitine metabolism in mouse serum and tissues

Biochem Pharmacol 39: 181-185, 1990

Rudman D, Sewell CW, Ansley JD

Deficiency of carnitine in cachectic cirrhotic patients

J Clin Invest 60: 713-716, 1977

Ruggiero FM, Cafagna F, Gadaleta MN, Quagliariello E

Effect of aging and acetyl-L-carnitine on the lipid composition of rat plasma and erythrocytes

Biochem Biophys Res Commun 170: 621-626, 1990

Sackellares JC, Arbor C, Crosby C, Tonelson S, Dreifuss FE

Valproic acid (VPA) in the treatment of absence seizures

Neurology 30: 420, 1980

Sackellares JC, Lee SI, Dreifuss FE
Stupor following administration of valproic acid to
patients receiving other antiepileptic drugs
Epilepsia 20: 697-703, 1979

Saiz Moreno L, García de Osma JL, Compaire Fernandez C
Animales de Laboratorio: Cría, manejo y control
sanitario
Monografía No. 39 del Instituto Nacional de
Investigaciones Agrarias, Madrid, 1983

Sakuma T
Alteration of urinary carnitine profiles induced by
benzoate administration
Arch Dis Child 66: 873-875, 1991

Sander JW, Hart YM, Trevisol-Bittencourt PC
Absence status (letter to the editor)
Neurology 40: 1010-1011, 1990

Sandler RM, Bevan PC, Roberts GE, Emberson C, Voak D,
Darnborough J, Heeley AF
Interaction between sodium valproate and platelets: A
further study
Br Med J 2: 1476, 1979

Sandor A
Butyrobetaine is equal to l-carnitine in elevating
l-carnitine levels in rats
Biochim Biophys Acta 1083: 135-138, 1991

Sasaki S, Nakata T, Kawasaki S, Hayashi J, Oguro M,
Takeda K, Nakagawa M
Chronic central GABAergic stimulation attenuates
hypothalamic hyperactivity and development of
spontaneous hypertension in rats
J Cardiovasc Pharmacol 15: 706-713, 1990

Sato S, White BG, Penry JK, Dreifuss FE, Sackellares
JC, Kupferberg HJ
Valproic acid versus ethosuximide in the treatment of
absence seizures
Neurology 32: 157-163, 1982

Scarlato G, Albizzati MG, Bassi S
A case of lipid storage myopathy with carnitine
deficiency: Biochemical and electromyographic
correlations
Eur Neurol 16: 222-226, 1977

Scow RO, Blanchette-Mackie EJ, Smith LC
Transport of lipid across capillary endothelium
Fed Proc 39: 2610-2616, 1980

Schafer J, Reichmann H
Subnormal carnitine levels and their correction in
artificially fed patients from a neurological intensive
care unit: A pilot study
J Neurol 237: 213-215, 1990

Scheyer RD, Cramer JA, Toftness BR, Hochholzer JM,
Mattson RH
In vivo determination of valproate binding constants
during sole and multi-drug therapy
Ther Drug Monit 12: 117-123, 1990

Schiaffino S, Hanzlikova V, Pierobon S
Relations between structure and function in rat
skeletal muscle fibers
J Cell Biol 47: 107-119, 1970

Schmidt D
Adverse effects of valproate
Epilepsia 25 (Suppl): S44-S49, 1984

Schmidt-Sommerfeld E, Penn D, Bieber LL, Kerner J
Carnitine ester excretion in pediatric patients
receiving parenteral nutrition
Pediatr Res 28: 158-165, 1990

Schmidt-Sommerfeld E, Penn D, Wolf H
Carnitine blood concentration and fat utilization in
parenterally alimented premature newborn infants
J Pediatr 102: 931-935, 1982

Schmutz M, Olpe HR, Koella WP
Central actions of valproate sodium
J Pharm Pharmacol 31: 413-414, 1979

Schnabel R, Rambeck B, Janssen F
Fatal intoxication with sodium valproate
Lancet 1: 221-222, 1984

Scholte HR
Low carnitine levels in serum of pregnant women
N Engl J Med 299: 1079, 1978

Seccombe DW, James L, Booth F
l-Carnitine treatment in glutaric aciduria type I
Neurology 36: 264-267, 1986

Seccombe DW, Snyder F, Parsons HG
l-Carnitine for methylmalonic aciduria
Lancet 2: 1041, 1982

Semmes RL, Shen DD
Nonlinear binding of valproic acid (VPA) and
E-delta-2-valproic acid to rat plasma proteins
Pharm Res 7: 461-467, 1990

Shakir RA, Nanda RN, Lambie DG, Johnson RH
Comparative trial of valproate sodium and clonazepam in
chronic epilepsy
Arch Neurol 36: 301-304, 1979

Shapira Y, Gutman A
Muscle carnitine deficiency in patients using valproic
acid
J Pediatr 118: 646-648, 1991

Shaw RD, Li BUK, Hamilton JW, Shug AL, Olsen WA
Carnitine transport in rat small intestine
Am J Physiol 245: G376-G388, 1983

Shen DD, Pollack GM, Cohen ME, Duffner P, Lacey D,
Ryan-Dudek P
Effect of age on the serum metabolite pattern of
valproic acid in epileptic children
Epilepsia 25: 674-679, 1984

Shephard RA, Toal L, Leslie JC
Effects of agonists and antagonists at the
GABA/benzodiacepine receptor on conditioned supression
in rats
Pharmacol Biochem Behav 36: 39-43, 1990

Sherard ES, Steiman GS, Couri D
Treatment of childhood epilepsy with valproic acid:
Results of the first 100 patients in a six month trial
Neurology 30: 31-35, 1980

Shlisselberg N, Bosch JR, Herrera J
Valproic acid in the treatment of refractory bipolar
disorder (letter to the editor)
J Clin Psychopharmacol 10: 151-152, 1990

Siarni G, Clinton ME, Mrak R, Griffis J, Stone W
Evaluation of the effect of intravenous l-carnitine
therapy on function, structure and fatty acid
metabolism of skeletal muscle in patients receiving
chronic hemodialysis
Nephron 57: 306-313, 1991

Siliprandi N, Di Lisa F, Menabo R
Propionyl-l-carnitine: Biochemical significance and
possible role in cardiac metabolism
Cardiovasc Drugs Ther 5 (Suppl 1): 11-15, 1991

Siliprandi N, Di Lisa F, Menabo R, Ciman M, Sartorelli
L
Transport and functions of carnitine in muscles
J Clin Chem Clin Biochem 28: 303-306, 1990a

Siliprandi N, Di Lisa F, Pieralisi G, Ripari P, Maccari
F, Menabo R, Giamberardino MA, Vecchiet L
Metabolic changes induced by maximal exercise in human
subjects following l-carnitine administration
Biochim Biophys Acta 1034: 17-21, 1990b

Siliprandi N, Sartorelli L, Ciman M, Di Lisa F
Carnitine: Metabolism and clinical chemistry
Clin Chim Acta 183: 3-12, 1989

- Simi B, Mayet MH, Sempore B, Favier RJ
Large variations in skeletal muscle carnitine level fail to modify energy metabolism in exercising rats
Comp Biochem Physiol A 97: 543-549, 1990
- Simon D, Penry JK
Sodium di-n-propylacetate (DPA) in the treatment of epilepsy. A review
Epilepsia 16: 549-573, 1975
- Sinforiani E, Iannuccelli M, Mauri M, Costa A, Merlo P, Bono G, Nappi G
Neuropsychological changes in demented patients treated with acetyl-l-carnitine
Int J Clin Pharmacol Res 10: 69-74, 1990
- Singh K, Orr JM, Abbott FS
Pharmacokinetics and enterohepatic circulation of (E)-2-ene valproic acid in the rat
J Pharmacobiodyn 13: 622-627, 1990
- Smith DB
Cognitive effects of antiepileptic drugs
Adv Neurol 55: 197-212, 1991
- Smith FR, Boots M
Sodium valproate and bone marrow supression
Ann Neurol 8: 197-199, 1980
- Snyder JW, Kyle ME, Ferraro TN
l-Carnitine delays the killing of cultured hepatocytes by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine
Arch Biochem Biophys 276: 132-138, 1990
- Snyder TM, Little BW, Roman-Campos G, McQuillen JB
Succesful treatment of familial idiopathic lipid storage myopathy with L-carnitine and modified lipid diet
Neurology 32: 1106-1115, 1982
- Sovner R
Divalproex-responsive rapid cycling bipolar disorder in a patient with Down's syndrome: Implications for the Down's syndrome-mania hypothesis
J Ment Defic Res 35: 171-173, 1991

Spagnoli LG, Corsi M, Villaschi S, Palmieri G, Maccari F
Myocardial carnitine deficiency in acute myocardial infarction
Lancet 1: 1419-1420, 1982

Spagnoli LG, Palmieri G, Mauriello A, Vacha GM, D'iddio S, Giorcelli G, Corsi M
Morphometric evidence of the trophic effect of L-carnitine on human skeletal muscle
Nephron 55: 16-23, 1990

Spector A
Metabolism of free fatty acids
Prog Biochem Pharmacol 6: 130-142, 1971

Srivastava M, Collins MD, Scott WJ Jr, Wittfoht W, Nau H
Transplacental distribution of weak acids in mice: Accumulation in compartments of high pH
Teratology 43: 325-329, 1991

Stanley CA
Chronic cardiomyopathy and weakness or acute coma in children with a defect in carnitine uptake
Ann Neurol 30: 709-16, 1991

Stumpf DA, Parker WD Jr, Angelini C
Carnitine deficiency, organic acidemias, and Reye syndrome
Neurology 35: 1041-1045, 1985

Stumpf DA, Parker WD, Haas R
Carnitine deficiency with valproate therapy
J Pediatr 103: 175-176, 1983

Sugie H
Infantile muscle glycogen storage disease: Phosphoglucomutase deficiency with decreased muscle and serum carnitine levels
Neurology 38: 602-605, 1988

Sugimoto T, Nishida N, Yasuhara A, Ono A, Sakane Y, Matsumura T
Reye-like syndrome associated with valproic acid
Brain Dev 5: 334-337, 1983

- Sugimoto T, Araki A, Nishida N, Sakane Y, Woo M, Takeuchi T, Kobayashi Y
Hepatotoxicity in rat following administration of valproic acid: Effect of l-carnitine supplementation
Epilepsia 28: 373-377, 1987b
- Sugimoto T, Woo M, Nishida N, Takeuchi T, Sakane Y, Kobayashi Y
Hepatotoxicity in rat following administration of valproic acid
Epilepsia 28: 142-146, 1987a
- Sugiyama N, Kidouchi K, Kobayashi M, Wada Y
Carnitine deficiency in inherited organic acid disorders and Reye syndrome
Acta Paediatr Jpn 32: 410-416, 1990
- Sussman NM, MacLain LW
A direct hepatotoxic effect of valproic acid
JAMA 242: 1173-1174, 1979
- Swanson BN, Harland RC, Dickinson RG, Gerber N
Excretion of valproic acid into semen of rabbits and man
Epilepsia 19: 541-546, 1978
- Tanaka T, Hosaka K, Hoshimaru M, Numa S
Purification and properties of long-chain acyl-coenzyme A synthetase from rat liver
Eur J Biochem 98: 165-176, 1979
- Tao RC, Yoshimura NN
Carnitine metabolism and its application in parenteral nutrition
J Parenteral Enteral Nutr 4: 469-486, 1980
- Tempesta E, Troncon R, Janiri L, Colusso L, Riscica P, Saraceni G, Gesmundo E, Calvani M, Benedetti N, Pola P
Role of acetyl-l-carnitine in the treatment of cognitive deficit in chronic alcoholism
Int J Clin Pharmacol Res 10: 101-107, 1990
- Thompson PJ, Trimble MR
Anticonvulsant drugs and cognitive functions
Epilepsia 25: 531-544, 1982

Thurston JH, Carroll JE, Dodson WE, Hauhart RE, Tasch V
Chronic valproate administration reduces fasting
ketonemia in children

Neurology 33: 1348-1350, 1983

Thygesen J, Boesen F

Two cases of reversible liver lesion induced by
valproate

Acta Neurol Scand 66: 396-399, 1982

Treem WR

Primary carnitine deficiency due to a failure of
carnitine transport in kidney, muscle, and fibroblasts

N Engl J Med 319: 1331-1336, 1989

Triggs WJ, Bohan TP, Lin SN, Willmore LJ

Valproate-induced coma with ketosis and carnitine
insufficiency

Arch Neurol 47: 1131-1133, 1990

Tripp ME, Katcher ML, Peters HA

Systemic carnitine deficiency presenting as familial
endocardial fibroelastosis

N Engl J Med 305: 385-389, 1981

Turnbull DM, Howel D, Rawlins MD, Chadwick DW

Wich drug for the adult epileptic patient: Phenytoin or
valproate?

Br Med J 290: 815-819, 1985

Vacha GM, Corsi M, Giorcelli G, D'iddio S, Maccari F

Serum and muscle l-carnitine levels in hemodialyzed
patients during and after long-term l-carnitine
treatment

Current Ther Res 37: 505-516, 1985

Vacha GM, Giorcelli G, Siliprandi N, Corsi M

Favorable effects of l-carnitine treatment on
hypertriglyceridemia in hemodialysis patients: Decisive
role of low levels of high-density
lipoprotein-cholesterol

Am J Clin Nutr 38: 532-540, 1983

- Vajda FJE, Donnan GA, Phillips J, Bladin PF
Human brain, plasma and cerebrospinal fluid
concentration of sodium valproate after 72 hours of
therapy
Neurology 31: 486-487, 1981
- Van Erp MG, Van Dongen AM, Van den Berg RJ
Voltage-dependent action of valproate on potassium
channels in frog node of Ranvier
Eur J Pharmacol 184: 151-161, 1990
- Van Hinsbergh VW, Scheffer MA
Effect of propionyl-L-carnitine on human endothelial
cells
Cardiovasc Drugs Ther 5 (Suppl 1): 97-105, 1991
- Vecchiet L, Di Lisa F, Pieralisi G, Ripari P, Menabo R,
Giamberardino MA, Siliprandi N
Influence of L-carnitine administration on maximal
physical exercise
Eur J Appl Physiol 61: 486-490, 1990
- Veitch K, Van Hoof F
In vitro effects of eight-carbon fatty acids on
oxidations in rat liver mitochondria
Biochem Pharmacol 40: 2153-2159, 1990
- Verity MA
Infantile Pompe's disease, lipid storage, and partial
carnitine deficiency
Muscle Nerve 14: 435-440, 1991
- Verloes A, Frikiche A, Gremillet C, Paquay T, Decortis
T, Rigo J, Senterre J
Proximal phocomelia and radial ray aplasia in fetal
valproic syndrome
Eur J Pediatr 149: 266-267, 1990
- Vila-Donat E, Abad-Gimeno FJ, Primo-Vera J
Recuperación y utilización posterior de la información
contenida en una base documental mediante un programa
informático
Med Clin 98: 637, 1992

Vogel CM, Drury I, Terry LC, Young AB
Myoclonus in adult Huntington's disease
Ann Neurol 29: 213-215, 1991

Von Voss H, Petrich C, Karch D, Schulz H-U, Gobel U
Sodium valproate and platelet function
Br Med J 2: 179, 1976

Wahnschaffe U, Loscher W
Effect of selective bilateral destruction of the
substantia nigra on antiepileptic drug actions in
kindled rats
Eur J Pharmacol 186: 157-167, 1990

Wanner C, Wackerle B, Boeckle H, Schollmeyer P, Horl WH
Plasma and red blood cell carnitine and carnitine
esters during l-carnitine therapy in hemodialysis
patients
Am J Clin Nutr 51: 407-410, 1990

Warady BA, Borum P, Stall C, Millspaugh J, Taggart E,
Lum G
Carnitine status of pediatric patients on continuous
ambulatory peritoneal dialysis
Am J Nephrol 10: 109-114, 1990

Ware AJ, Burton CW, McGarry JD
Systemic carnitine deficiency: Report of a fatal case
with multi-system manifestations
J Pediatr 93: 959-962, 1978

Warter JM, Brandt Ch, Marescaux Ch, Rumbach L,
Micheletti G, Chabrier G, Krieger J, Imler M
The renal origin of sodium valproate-induced
hyperammonemia in fasting humans
Neurology 33: 1136-1140, 1983

Weisiger R, Gollan J, Ockner R
Receptor for albumin on the liver cell surface may
mediate uptake of fatty acids and other albumin-bound
substrates
Science 211: 1048-1052, 1981

Weschler A, Aviram M, Levin M, Better OS, Brook JG
High dose of l-carnitine increases platelet aggregation
and plasma triglyceride levels in uremic patients on
hemodialysis
Nephron 38: 120-124, 1984

White HL, Scates PW
Acetyl-l-carnitine as a precursor of acetylcholine
Neurochem Res 15: 597-601, 1990

Wilder BJ, Ramsay E, Murphy JV, Karas BJ, Marquarot K,
Hammond EJ
Comparison of valproic acid and phenytoin in newly
diagnosed tonic-clonic seizures
Neurology 33: 1474-1476, 1983

Williams LHP, Reynolds RP, Emery JL
Pancreatitis during sodium valproate treatment
Arch Dis Child 58: 543-547, 1983

Willmore LJ, Triggs WJ, Pellock JM
Valproate toxicity: risk-screening strategies
(editorial)
J Child Neurol 6: 3-6, 1991

Wyllie E, Wyllie R, Cruse RP, Erenberg G, Rothner AD
Pancreatitis associated with valproic acid therapy
Am J Dis Child 138: 912-914, 1984

Young RS, Bergman I, Gang DL
Fatal Reye-like syndrome associated with valproic acid
Ann Neurol 7: 389, 1980

Zaccara G, Campostrini R, Paganini M, Messori A,
Valenza T, Arnetoli G, Zappoli R
Long-term treatment with sodium valproate: monitoring
of venous ammonia concentrations and adverse effects
Ther Drug Monit 9: 34-40, 1987

Zaret BS, Marini AM
Standardization in VPA-induced hyperammonemia (letter to
the editor)
Neurology 35: 136-137, 1985

Zeise ML, Kasparow S, Zieglgansberger W
Valproate supresses N-methyl-D-aspartate-evoked,
transient depolarizations in the rat neocortex in vitro
Brain Res 544: 345-348, 1991

Zimmerman HJ, Ishak KG
Valproate-induced hepatic injury: analyses of 23 fatal
cases
Hepatology 2: 591-597, 1982

Zona C, Avoli M
Effects induced by the antiepileptic drug valproic acid
upon the ionic currents recorded in rat neocortical
neurons in cell culture
Exp Brain Res 81: 313-317, 1990