

30362



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

CAMPUS IZTACALA

“EFECTO DE LA BROMOCRIPTINA SOBRE LA  
ULTRAESTRUCTURA DEL NÚCLEO CAUDADO DE RATA  
EXPUESTA A UN MODELO DE ENFERMEDAD DE  
PARKINSON CON 6-OHDA”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN NEUROCIENCIAS

P R E S E N T A:

**BIOL. ENRIQUE MONTIEL FLORES.**

DIRECTOR DE TESIS: MAESTRA MARÍA ROSA AVILA COSTA

LOS REYES IZTACALA, EDO. MEX.

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

### A MIS PADRES:

Que han compartido su fuerza y perseverancia y que siempre me han dado su apoyo y comprensión en todo momento, el éxito en la terminación de este trabajo sigue siendo el reflejo de su esfuerzo.

### A ALMA:

Por que iniciaste conmigo este largo y sinuoso camino y por que me has apoyado en las buenas y las malas rachas, la culminación de este trabajo es parte de ti.

### A FERNANDA Y JOSUÉ:

Por que son parte fundamental de mi vida y la han convertido en algo realmente maravilloso ya que son mi inspiración y aliciente para seguir adelante.

### A MIS HERMANOS:

Francisco, Ricardo, Humberto, Eduardo y Elizabeth que son mis mejores amigos

### A MIS SOBRINOS:

Betin y Ari que forman parte de mi vida.

### A MARÍA ROSA:

Un agradecimiento muy especial para ti que me apoyaste incondicionalmente y que me brindaste la oportunidad de seguir adelante en los momento de más incertidumbre y poder terminar este trabajo. Un agradecimiento eterno.....

### A VIRIS:

Quiero agradecerte tu ayuda, comprensión y amistad ya que me animaste a seguir adelante

### A FERNANDO Y MARI TRINI:

Por su amistad y por que somos compadres

### A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS DEL LABORATORIO:

Chucho, Paty, Lichita, Daniel, Natalia, Cesar..... por su ayuda.

### A MIS AMIGOS DE SIEMPRE:

Juan Arturo y Griselle, Vicente y Martha, Angelica, Lorena,.....

FINALMENTE QUIERO AGRADECER A LA MAESTRA MARÍA ROSA AVILA, A LA MAESTRA VERONICA ANAYA, A LA MAESTRA LAURA COLÍN, A LA DRA ERZSÉBET MAROSI Y AL MAESTRO ALFONSO REYES, TODO SU APOYO Y SUS VALIOSAS CRITICAS PARA TERMINAR ESTE TRABAJO

## ABREVIATURAS

GPe	Globo pálido externo
GPI	Globo pálido interno
GABA	Acido-gamma-amino-butirico
GLU	Glutamato
DA	Dopamina
SN	Sustancia Nigra
SNr	Sustancia nigra <i>pars reticulata</i>
SNC	Sustancia nigra <i>pars compacta</i>
NST	Núcleo subtalámico
TAL	Tálamo
6-OHDA	6-Hidroxidopamina
MPTP	1-metil-4, fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
TH	Tiroxina-hidroxilasa
PPE-A	Preproencefalina-A
PPE-B	Preproencefalina-B

# INDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	2
<b>3. GANGLIOS BASALES</b> .....	5
3.1 Anatomía de los ganglios basales .....	5
3.2 Organización celular .....	6
3.3 Organización funcional .....	8
3.4 Aspectos conductuales .....	10
3.5 Organización sináptica .....	11
3.5.1 Proyecciones cortico-estriatales .....	12
3.5.2 Proyección nigroestriatal .....	12
3.5.3 Proyecciones estriatales de la vía directa .....	13
3.5.4 Proyecciones estriatales de la vía indirecta .....	13
3.5.5 Proyecciones intraestriatales .....	13
4. Interacción entre neurotransmisores .....	14
<b>5. MODELOS EXPERIMENTALES DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON</b> .....	18
5.1 Modelo con 6-Hidroxidopamina 6-OHDA .....	19
5.2 Modelo con 1-metil-4, fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) .....	21
<b>6. CONSECUENCIAS DE LA DEPLECIÓN</b> .....	22
6.1 Funcionales .....	22
6.2 Neuroquímicas .....	23
6.3 Ultraestructurales .....	24
<b>7. TRATAMIENTOS</b> .....	25
7.1 Factores tróficos .....	25
7.2 Transplantes .....	26
7.3 Anti-excitotóxica .....	27

7.4 Antioxidantes .....	27
7.5 Farmacológica .....	29
7.5.1 L-Dopa .....	29
7.5.2 Anticolinérgicos .....	30
7.5.3 Amantadina .....	30
7.5.4 Selegilina (Deprenyl) .....	30
7.5.5 Bromocriptina .....	31
<b>8. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>33</b>
<b>9. OBJETIVO</b> .....	<b>33</b>
<b>10. MÉTODO</b> .....	<b>33</b>
<b>11. RESULTADOS</b> .....	<b>35</b>
11.1 Diámetro del botón sináptico .....	36
11.2 Blanco Postsináptico .....	36
11.3 Número de contactos sinápticos .....	36
<b>12. DISCUSIÓN</b> .....	<b>37</b>
12.1 Incremento en el diámetro de los botones sinápticos .....	37
12.2 Alteraciones en los blancos postsinápticos .....	38
12.3 Número de contactos sinápticos .....	39
<b>13. CONCLUSIONES</b> .....	<b>40</b>
<b>14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>41</b>

## RESUMEN

El estudio de la enfermedad de Parkinson, emplea como uno de los modelos experimentales, la destrucción unilateral de la vía nigroestriatal dopaminérgica a través de la administración intracerebral de la neurotoxina selectiva 6-hidroxidopamina (6-OHDA), la cual destruye selectivamente a las neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra *pars compacta* provocando severas alteraciones neuroquímicas, fisiológicas y ultraestructurales (como fue reportado previamente por nuestro laboratorio). Para disminuir los síntomas en los pacientes que presentan la enfermedad de Parkinson se han utilizado diversos fármacos, entre los que encontramos a la Bromocriptina el cual es un alcaloide y funcionalmente es un agonista de los receptores dopaminérgicos  $D_2$ ; además se ha descrito que desempeña el papel de antioxidante y de "barredor de radicales libres" tóxicos generados por el metabolismo de la dopamina y de la 6-OHDA y que son dañinos para la célula. El objetivo del presente trabajo es analizar si el tratamiento con bromocriptina atenúa las alteraciones ultraestructurales del neuropilo del núcleo caudado que se observan después de la lesión unilateral con 6-OHDA. Se emplearon 18 ratas macho de la cepa Wistar; 12 de ellas se lesionaron unilateralmente en el haz medial del cerebro anterior con 8  $\mu\text{g}$  de 6-OHDA y las 6 ratas restantes se les administró 4  $\mu\text{l}$  de solución vehículo en la misma región. Las ratas lesionadas con 6-OHDA mostraron más de 200 giros en 30 minutos ante la administración de 0.25 mg/Kg de Apomorfina (i.p.). Dos días después de esta prueba, se tomaron 6 ratas lesionadas con 6-OHDA y fueron tratadas con 0.3 mg/Kg de bromocriptina por vía oral durante 30 días (continuos) y las 6 ratas restantes lesionadas no recibieron este fármaco y fueron mantenidas al igual que las ratas que recibieron solución salina durante 30 días. Al término del tratamiento las ratas de los 3 grupos fueron sacrificadas. De los 3 grupos se tomaron fragmentos del cuadrante dorsomedial de la cabeza del núcleo caudado ipsi y contralateral a la lesión, los cuales fueron procesados mediante la técnica ordinaria para microscopía electrónica, asimismo la región de la sustancia nigra se procesó histológicamente con la técnica de inmunocitoquímica para Tiroxina-Hidroxilasa (enzima limitante en la síntesis de dopamina) para corroborar que hubo un 95 % de pérdida de células dopaminérgicas comparadas con el control. Para el análisis ultraestructural se estudiaron 50 botones presinápticos por caudado, a los cuales se les midió el diámetro (eje mayor y eje menor) del botón presináptico, el blanco postsináptico (espinas o dendritas) y finalmente el número de contactos sinápticos establecidos con la misma estructura (simples o dobles). Los resultados indican que las ratas tratadas con solución salina no mostraron cambios en ninguno de los parámetros analizados. Las ratas lesionadas con 6-OHDA presentaron incremento significativo en el diámetro de los botones sinápticos, pérdida de espinas dendríticas, aumento en los contactos establecidos con las dendritas y aumento en el número de contactos sinápticos dobles. Mientras que las ratas lesionadas con 6-OHDA + Bromocriptina presentaron disminución significativa en el diámetro de los botones sinápticos, además se observó que no hubo disminución de contactos con espinas dendríticas y finalmente aumentó el número de contactos sinápticos dobles comparados con el grupo de ratas que solo recibieron la aplicación de 6-OHDA. De acuerdo a los resultados podemos establecer que la bromocriptina atenúa en parte las alteraciones ultraestructurales inducidas por la lesión, probablemente debido a sus propiedades antioxidantes ya que protegió a las células del edema y a las espinas dendríticas, asimismo es posible que promueva la formación de proteínas antioxidantes.



# 1. INTRODUCCIÓN

Desde hace mucho tiempo, el estudio e investigación del Sistema Nervioso, se ha realizado, principalmente en base a modelos animales, los cuales de manera análoga nos permiten demostrar el funcionamiento de ciertas áreas del mismo.

Los ganglios basales son frecuentemente afectados por procesos neurodegenerativos, que se manifiestan en trastornos del movimiento (De Long, 1974)

Entre las enfermedades neurodegenerativas que afectan a los ganglios basales se encuentra la enfermedad de Parkinson. Los pacientes que padecen esta enfermedad, presentan una gran dificultad para iniciar el movimiento, estableciéndose la hipótesis de que los ganglios basales están involucrados en la ejecución "automática" de los movimientos aprendidos (De Long y Georgopoulos, 1981; Graybiel, A M 1990)

Las enfermedades de los ganglios basales, producen principalmente movimientos involuntarios como temblor (movimientos rítmicos y oscilatorios), atetosis (movimientos lentos de los dedos y de la mano y en ocasiones de los pies), corea (movimientos abruptos de los miembros y de los músculos de la cara), balismo (movimientos violentos), y distonias (posturas persistentes de alguna parte del cuerpo que da como resultado movimientos grotescos y posturas distorsionadas del cuerpo) (Velasco, 1986, Joyce 1993).

Desde el punto de vista clínico, estas enfermedades se pueden dividir en dos grupos principales:

- A. Síndrome de hiperquinesia hipotónica, la cual se caracteriza por presentar movimientos involuntarios irregulares que afectan a diferentes partes del cuerpo. Dentro de este grupo se encuentran la corea, la atetosis, el hemibalismo, la distonia y la enfermedad de Wilson
- B. Síndrome de aquinesia hipertónica, el cual se caracteriza por presentar, reducción de movimientos espontáneos asociados como temblor en reposo, incremento en el tono muscular, dificultad para iniciar movimientos, pasividad en movimientos espontáneos (aquinesia) y ejecución lenta de movimientos (bradiquinesia). a este grupo pertenece la enfermedad de Parkinson (Rinwald y Vigouret, 1988)

## 2. ANTECEDENTES

En el siglo antepasado (1817) James Parkinson describió un padecimiento que denominó Parálisis Agitante, el cual describió como movimientos involuntarios con disminución de la fuerza muscular en segmentos inmóviles, con tendencia a la inclinación del tronco hacia adelante, así como la marcha acelerada, sin alteración intelectual ni de los órganos de los sentidos.

Esta enfermedad despertó gran expectación a causa de su larga evolución y de las características clínicas y epidemiológicas que empezaban a ser informadas. Así Charcot (1880, en Otero-Siliceo et. al. 1996), afirmó que la enfermedad de Parkinson era más frecuente en pacientes con edades mayores de 40 o 50 años. Sin embargo Gowers (1887, en Otero-Siliceo et al. 1996), en su manual de enfermedades del sistema nervioso, presentó una notable atención a la parálisis agitante. En este informe menciona que la edad de aparición de la enfermedad era posterior a los 40 años independientemente del sexo. En este tiempo, se empezó a tratar de correlacionar la enfermedad con hechos que pudieran desencadenar la aparición de la enfermedad Purves Stewart (1898, en Otero-Siliceo et. al. 1996), reporta que el inicio de los síntomas de la enfermedad oscila entre los 22 a 73 años de edad.

A principios de este siglo se demostró que la sustancia nigra (SN) presentaba una considerable pérdida neuronal además de depigmentación en los pacientes que presentaban la enfermedad de Parkinson (Tretiakoff, 1919). Posteriormente se demostró que existía una conexión nigroestriatal, la cual se consideró como una de las vías aferentes más importantes. En 1966 Hornykiewicz analizó cerebros de pacientes con esta enfermedad y encontró una reducción significativa de dopamina, serotonina y noradrenalina principalmente en el cuerpo estriado y en la SN. Además puntualizó que de las tres aminas biogénicas, la que más se reducía era la dopamina, además estos pacientes mostraban pérdida de células y depigmentación en la SN y en el locus coeruleus. Posteriormente se demostró que las neuronas que estaban degenerando eran neuronas dopaminérgicas de la porción compacta de la sustancia nigra (SNc) (Yurek y Sladek, 1990; Gibb y Less, 1991). Por otra parte se ha observado que las neuronas del

cuerpo estriado que están inervadas por las neuronas dopaminérgicas de la SNc se encuentran atrofiadas, es decir, las dendritas de las neuronas del cuerpo estriado están hinchadas y con marcada pérdida de espinas dendríticas (McNeil et. al. 1988). Asimismo se ha observado que hay disminución importante en la actividad de las enzimas biosintéticas de catecolaminas como la tiroxina hidroxilasa y la dopa descarboxilasa (Lloyd et al. 1975, Waters et. al. 1988, Pickett et al. 1992), así como pérdida de inmunorreactividad a encefalinas y dinorfinas en la SN (Waters et al. 1988) y disminución de serotonina y norepinefrina (Bernheimer et. al. 1973; Langston et. al. 1987).

Otra característica de dicha enfermedad, es que el citoplasma y algunos procesos celulares de las neuronas sobrevivientes de la SN, del rafe dorsal y del locus coeruleus presentan los llamados cuerpos de Lewy (Lewy, 1912, Forno, 1982; Price et al. 1986) Estos cuerpos son inclusiones de tipo hialino, constituidos ultraestructuralmente por un núcleo amorfo, material granular con algunas membranas y filamentos de 8 a 10nm de diámetro (Seitelberg y Lassmann, 1990), que se forman por la fosforilación anormal de proteínas que constituyen los neurofilamentos (Jellinger, 1990).

En 1933 Russell Brain (en Otero-Siliceo, et. al. 1996), recalcó que la evolución de la enfermedad es progresiva y definitiva, sin embargo agregó que los casos diferían en cuanto a progresión y los síntomas podrían confinarse a una sola extremidad durante largo tiempo Schwab (1960), señaló una probable relación entre la enfermedad y los trastornos emocionales.

Así pues, la enfermedad de Parkinson se caracteriza por un problema clínico mayor causado por la disminución de dopamina en el cuerpo estriado, como resultado de una severa degeneración de la vía dopaminérgica nigroestriatal. Por lo tanto, se han establecido numerosas hipótesis para tratar de explicar el origen de esta enfermedad.

A La enfermedad de Parkinson es el resultado de un proceso fortuito, es decir que la disminución de las neuronas dopaminérgicas se relaciona con un envejecimiento normal y que puede ser acelerada por la acción acumulativa de daños repetidos de la vida diaria (virus, toxinas, trauma cerebral, etc.), este concepto también se conoce como "la hipótesis de envejecimiento acelerado" (Appel, 1981)

- B. La enfermedad de Parkinson es el resultado de la falta de una hormona neurotrófica, esta teoría postula que un factor específico de crecimiento dopaminérgico se sintetiza y se almacena en un banco de células del estriado y que en algún momento, cuando esta hormona es requerida, las células son incapaces de proveerla (Robbins et. al. 1985).
- C. La enfermedad de Parkinson es causada por un defecto en el mecanismo de reparación del ADN, esta hipótesis se deriva de múltiples observaciones que se han realizado en cultivo de tejidos (fibroblastos) de pacientes con la enfermedad, postulándose que hay efectos letales sobre el ADN como los rayos X, causando mutaciones somáticas, dañando a las neuronas irreparablemente en la embriogénesis temprana (Barbeau, A.P. 1982).
- D. La enfermedad de Parkinson es el resultado de defectos genéticos específicos o predisposición genética. Se propone aunque de manera no muy clara, que los factores genéticos juegan un papel importante en su desarrollo. Esta teoría implica la presencia de uno o más factores de susceptibilidad hereditarios (Elizan y Casals, 1983; Langsotn et. al. 1983; Golbe, et al. 1990).
- E. La enfermedad de Parkinson tiene una etiología viral, debido a que los virus convencionales pueden producir la enfermedad, como una rara complicación de una infección. Estas evidencias se basan en estudios realizados sobre anticuerpos virales enmascarados (Elizan y Casals, 1983, Langsotn et. al., 1983). Por ejemplo, enfermedades como la encefalitis pandémica, produce síntomas clínicos similares a la enfermedad de Parkinson, con una clásica reducción de los niveles de dopamina en el núcleo estriado, sin embargo la presencia de ciertos síntomas y cambios patológicos en los individuos afectados, son claramente diferenciables de los que presentan la enfermedad de Parkinson (Heikkilä y Cohen 1971). En modelos animales de primates, se han inyectado extractos de cerebros de parkinsonicos, sin embargo han fallado para inducir la enfermedad, invalidándose la posibilidad de que su origen sea causado por infecciones virales (Graham et. al. 1978).

F. Estrés Oxidativo: Una de las bases del mecanismo propuesto inicialmente para explicar la muerte de las neuronas en pacientes que presentan la enfermedad de Parkinson, es la producción de radicales libres los cuales, si no son compensados por antioxidantes producen "estrés oxidativo". Estos radicales libres podrían dañar a las células si en un momento determinado, sus concentraciones exceden la capacidad de inactivación. Se ha reportado, que la concentración de enzimas que inactivan a los radicales libres, dentro de la sustancia nigra de pacientes que presentan la enfermedad de Parkinson, se encuentra muy reducida (Pery et al , 1982; Shapira et. al., 1990). Finalmente se ha establecido que el estrés oxidativo, parece que desempeña un papel altamente significativo en la neurodegeneración, que ocurre en la enfermedad de Parkinson (Alexi et al , 2000)

Estas hipótesis sirven de alguna manera, para explicar algunas de las anomalías relacionadas con la enfermedad de Parkinson, sin embargo ninguna de estas explica clara y completamente la cascada de eventos responsables de la iniciación de la enfermedad de Parkinson.

Ahora bien, ya que los ganglios basales están involucrados en la enfermedad de Parkinson, se explicará brevemente su organización anatómica y funcional

### **3. GANGLIOS BASALES**

El término "Ganglios basales", es usado para denominar a un grupo de núcleos relacionados anatómicamente y funcionalmente localizados en el telencéfalo, diencefalo y mesencéfalo. Estudios anatómico-funcionales reportan que los ganglios basales, son un sitio de convergencia e integración de múltiples áreas sensoriales, motoras y de asociación (DeLong y Georgopoulos, 1981; Parent y Hazrati 1995; Chesselet y Delfs 1996, Wilson 1998).

#### **3.1 ANATOMÍA DE LOS GANGLIOS BASALES**

Los ganglios basales son un grupo de núcleos localizados subcorticalmente, que están íntimamente relacionados en el control de los movimientos (Smith et. al , 1998) Este

F Estrés Oxidativo: Una de las bases del mecanismo propuesto inicialmente para explicar la muerte de las neuronas en pacientes que presentan la enfermedad de Parkinson, es la producción de radicales libres los cuales, si no son compensados por antioxidantes producen "estrés oxidativo". Estos radicales libres podrían dañar a las células si en un momento determinado, sus concentraciones exceden la capacidad de inactivación. Se ha reportado, que la concentración de enzimas que inactivan a los radicales libres, dentro de la sustancia nigra de pacientes que presentan la enfermedad de Parkinson, se encuentra muy reducida (Pery et al , 1982, Shapira et. al., 1990). Finalmente se ha establecido que el estrés oxidativo, parece que desempeña un papel altamente significativo en la neurodegeneración, que ocurre en la enfermedad de Parkinson (Alexi et. al , 2000).

Estas hipótesis sirven de alguna manera, para explicar algunas de las anomalías relacionadas con la enfermedad de Parkinson, sin embargo ninguna de estas explica clara y completamente la cascada de eventos responsables de la iniciación de la enfermedad de Parkinson.

Ahora bien, ya que los ganglios basales están involucrados en la enfermedad de Parkinson, se explicará brevemente su organización anatómica y funcional.

### **3. GANGLIOS BASALES**

El término "Ganglios basales", es usado para denominar a un grupo de núcleos relacionados anatómicamente y funcionalmente localizados en el telencéfalo, diencefalo y mesencéfalo. Estudios anatómico-funcionales reportan que los ganglios basales, son un sitio de convergencia e integración de múltiples áreas sensoriales, motoras y de asociación (DeLong y Georgopoulos, 1981; Parent y Hazrati 1995; Chesselet y Delfs 1996, Wilson 1998)

#### **3.1 ANATOMÍA DE LOS GANGLIOS BASALES**

Los ganglios basales son un grupo de núcleos localizados subcorticalmente que están íntimamente relacionados en el control de los movimientos (Smith et al , 1998) Este

grupo de núcleos incluyen al: núcleo estriado (NE), globo pálido (GP), sustancia nigra (SN) y el núcleo subtalámico (NST) (DeLong y Georgopoulos, 1981; Albin et. al. 1989, Wilson, 1990; Alexander y Crutcher, 1990; Coté y Crutcher, 1991; Wilson, 1998; Smith et. al , 1998).

Dentro de los primates, el NE se encuentra separado por la cápsula interna en dos regiones: una región dorsomedial (el núcleo caudado) y una región ventromedial (el putamen), a estos dos núcleos se les considera como la entrada hacia los ganglios basales. Embriológicamente estos dos núcleos se desarrollan a partir de la misma estructura telencefálica, por lo tanto presentan el mismo tipo de células (Carpenter, 1976, 1981). El GP es una estructura compuesta por dos segmentos, el segmento interno (GPi) y el externo (GPe), en mamíferos inferiores se presentan el globo pálido y el núcleo entopeduncular (DeLong y Georgopoulos, 1981). La SN se encuentra en el mesencéfalo y se divide en dos regiones, una región ventral denominada *pars reticulata* (SNr) y una región dorsal denominada *pars compacta* (SNc), aquí se localizan las células dopaminérgicas, cuyos cuerpos neuronales contienen el pigmento denominado neuromelanina (Carpenter, 1976). Este pigmento oscuro (que le da nombre a esta estructura), parece ser un polímero de la dopamina o bien de sus metabolitos. Se ha correlacionado el grado de pigmentación con la concentración de dopamina, sin embargo la función de este pigmento se desconoce (Coté y Crutcher, 1991). El NST se encuentra en la región basal del diencefalo, es decir en la unión con el mesencéfalo (Parent, 1990, Parent y Hazrati 1995).

### 3.2 ORGANIZACIÓN CELULAR

Utilizando la técnica de Nissl se ha reportado, que el NE de los humanos está compuesto por alrededor de 111 millones de neuronas (Fox et. al 1975), además está constituido por diferentes tipos neuronales (Di Figlia et al 1976, Dimova et. al , 1980. Chang et. al 1982; Chang y Kitai, 1982; Graveland et. al. 1985) Se ha reportado (Wilson, 1998) que la mayor composición celular (aprox.95 %) en el estriado esta dada por las llamadas "neuronas espinosas medianas de proyección", las cuales tienen como característica principal la de presentar una gran densidad de espinas que cubren a las

dendritas. Estas células tienen un cuerpo celular de entre 12-20  $\mu\text{m}$  de diámetro, ultraestructuralmente presentan un núcleo relativamente grande con pocas indentaciones y agregados de cromatina en la membrana nuclear, también presentan poca cantidad de citoplasma y pocos organelos (Fox et. al. 1971), además presentan de 25-30 ramificaciones dendríticas que irradian en todas direcciones, presentando un radio de 300-500 $\mu\text{m}$  (Wilson. 1998). Estas dendritas no presentan espinas en las primeras 30  $\mu\text{m}$ . ya que a partir de aquí se empiezan a ramificar y a presentar numerosas espinas dendríticas. Además su axón colateral se distribuye en la misma área que su árbol dendrítico (Grofova, 1975; Somogyi et. al. 1981, Bishop et. al.1982, Chang et. al. 1982. Wilson y Groves, 1980) Aunque se ha reportado otro tipo de neurona espinosa menos común, que tiene como característica una menor densidad de espinas dendríticas, un soma más largo y pocas pero largas ramificaciones dendríticas (Bolam et. ai 1981, Graveland et al. 1985)

El 5 % restante de la población total del estriado esta conformado por varios tipos de neuronas (llamadas interneuronas), en donde su principal característica es la de carecer de espinas en las dendritas. Se han identificado entre 7-8 tipos de interneuronas en base a su morfología, sin embargo sólo tres tipos se conocen en detalle. de acuerdo al tipo de neurotransmisor y neuromodulador que expresan, caracterizándose estructural y funcionalmente como

1. interneuronas gigantes colinérgicas, que representan el 2 % de la población total en el estriado (Fox et. al. 1971, Braak y Braak, 1982, Chang y Kitai. 1982, DiFiglia et. al. 1982; Bolam et. al. 1984; Wilson, 1998)
2. interneuronas en forma de canasta que contienen GABA/parvalbumina, que son entre el 3-5% del número total de células, además se incluyen también, otro grupo de interneuronas que contiene GABA/calretinina, sin embargo este tipo de interneurona no está caracterizada en detalle
3. interneuronas que contienen somatostatina/óxido nítrico sintetaza, que representan el 1-2 % de la población total (Di Figlia et al 1982; Kawaguchi et al. 1995; Wilson 1998) (figura 1)



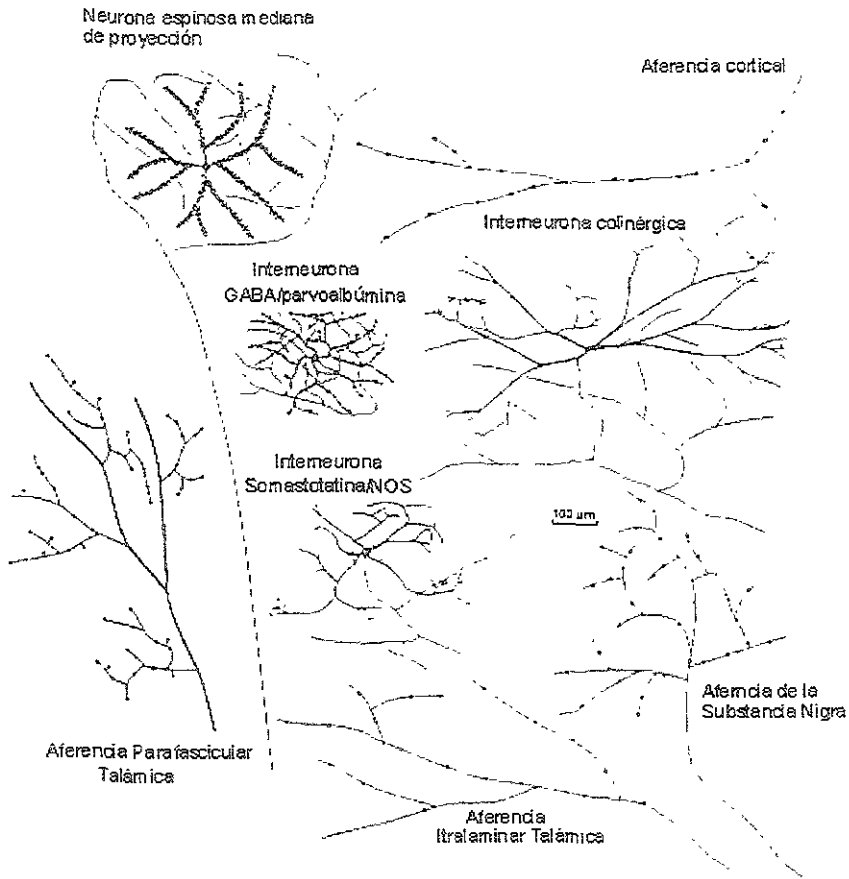


FIGURA 1. En esta figura se muestra esquemáticamente los diferentes tipos de neuronas estriatales, así como sus aferencias, provenientes de la corteza, del núcleo parafascicular e intralaminar del tálamo y de la substancia nigra compacta, además de las interneuronas. Modificado de Wilson (1998).

En especies como en ratas, ratones y gatos las neuronas espinosas medianas de proyección representan el 95% de toda la población neuronal del estriado. aunque en otras especies este porcentaje varía, como en el mono en donde estas neuronas representan el 77% de la población y el resto se considera que está constituido por interneuronas (Wilson, 1998).

### 3.3 ORGANIZACIÓN FUNCIONAL

Como se mencionó anteriormente la enfermedad de Parkinson se caracteriza clínicamente por trastornos en la iniciación de movimientos (acinesia), lentitud para llevar a cabo movimientos voluntarios (bradicinesia), rigidez muscular y temblor (Wichmann y DeLong, 1993). Además existen evidencias, de que los ganglios basales no solamente se limitan a aspectos sensoriomotores de programación de movimientos, sino que también se encuentran relacionados con aspectos de planeación de movimientos, selección y memoria motora (DeLong y Georgopoulos, 1981; Schneider, 1987, Albin et. al. 1989; Graybiel 1990; Alexander y Crutcher, 1990; Coté y Crutcher, 1991, Parent y Hazrati, 1993, 1995).

Las complejas conexiones de los ganglios basales, se pueden simplificar en base a circuitos intrínsecos, los cuales están organizados funcional y estructuralmente, además aparentemente trabajan en paralelo y están funcionalmente segregados, relacionándose corteza-ganglios basales-tálamo-corteza. A la fecha se conocen 5 circuitos principales

1. circuito motor, que proyecta a regiones corticales motoras precentrales, tálamo, núcleos ventral lateral *pars oralis*, ventral anterior *pars parvocellularis* y ventral anterior *pars magnocellularis*.
2. circuito óculomotor. que proyecta a regiones corticales visuales frontal y suplementaria y tálamo.
3. circuito prefrontal, que proyecta a la corteza prefrontal dorsolateral y tálamo.
4. circuito orbitofrontal lateral, que proyecta hacia la corteza orbitofrontal lateral y al tálamo.

5. circuito límbico, que proyecta a la corteza cingulada anterior, a la corteza orbitofrontal medial y al tálamo (Alexander y Crutcher, 1990; Hoover y Strick, 1993; Parent y Hazrati, 1995; Smith et. al 1998)

El circuito motor se basa en las llamadas "vía directa" y "vía indirecta", para procesar, integrar y transmitir (a través de los ganglios basales) el flujo de información proveniente de la corteza cerebral. La vía directa se inicia en el estriado y proyecta directamente hacia los núcleos de salida (GPi-SNr), así mismo, del estriado parte otra vía (indirecta), en ésta se hacen relevos en el GPe y NST, para finalmente dirigirla hacia los núcleos de salida (Chesselet y Graybiel, 1986; Gerfen y Young, 1988, Crossman, 1989, Alexander y Crutcher, 1990; Crossman, 1990; DeLong 1990; Gerfen et. al. 1990, Gerfen, 1992, Smith et. al. 1998). La integración dentro del estriado se realiza a través de dos subpoblaciones de neuronas espinosas de proyección (Graybiel, 1990; Smith y Bolam, 1990) Ambas subpoblaciones se caracterizan por presentar receptores a neurotransmisores y neuropéptidos. De acuerdo a esto, las células de la vía directa expresan receptores a GABA como su principal neurotransmisor, además receptores a dopamina del subtipo D<sub>1</sub> y los neuropéptidos sustancia P y dinorfinas, mientras que en la vía indirecta expresan GABA, receptores a dopamina del subtipo D<sub>2</sub> y los neuropeptidos encefalinas (Gerfen y Young, 1988; Albin et al. 1989; Gerfen et al 1990, LeMoine et al 1990; LeMoine et al 1991; Gerfen, 1992; Missale et al. 1988; Smith et al 1998) (figura 2)

Funcionalmente, la activación de ambas vías producen efectos opuestos, es decir, al incrementar la actividad de las neuronas de la vía directa, se inhiben tónicamente a las neuronas de los núcleos de salida, disminuyendo la inhibición o bien presentandose la llamada "Desinhibición" de las neuronas del tálamo Mientras que al incrementar la actividad de las neuronas de la vía indirecta, se inhibe tónicamente la actividad del GPe, este decremento conlleva a la desinhibición de las neuronas del NST y éstas a su vez incrementan la actividad de las neuronas de los núcleos de salida, inhibiéndose las neuronas del tálamo (Alexander y Crutcher, 1990, DeLong, 1990, Smith et al. 1998)

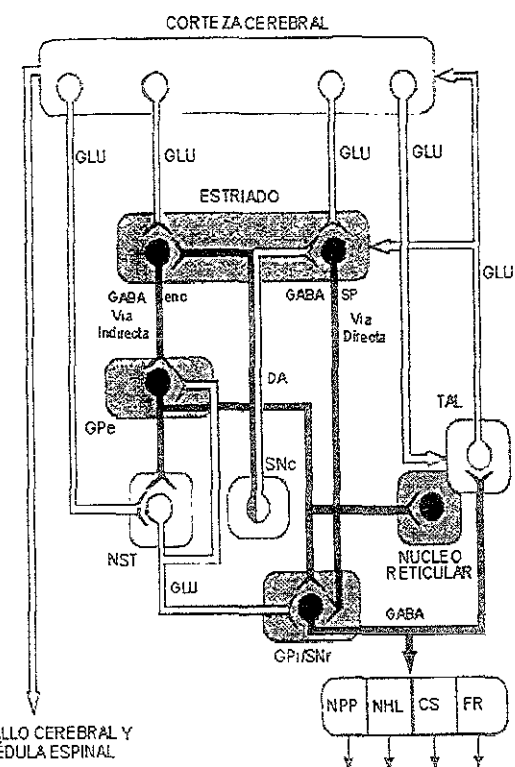
En base a este modelo se puede tener un mejor panorama de la patofisiología de los desórdenes del movimiento asociados con las enfermedades de los ganglios basales. El incremento en la actividad de ambas vías se ha relacionado, primero con la facilitación del movimiento (vía directa) y segundo con su inhibición (vía indirecta). De acuerdo a lo anterior se sugiere, que la enfermedad de Parkinson es el resultado de un desbalance en la actividad de ambas vías, presentándose una sobreactividad de la vía indirecta con respecto a la vía directa (Bergman et al 1990; DeLong, 1990, Smith et al 1998).

Es importante señalar que la dopamina que llega al estriado, parece que desempeña funciones diferenciales sobre la actividad de ambas vías, es decir, facilitando la transmisión de la vía directa y decrementando la actividad de la vía indirecta (Gerfen y Young, 1998; Gerfen, 1992). Funcionalmente la dopamina ejerce sus efectos, sobre la actividad motora a través de 7 subtipos de receptores genéticamente diferentes, los cuales se han distribuido en dos familias:  $D_1$  ( $D_1$ ,  $D_5$ ) y  $D_2$  ( $D_2$ ,  $D_3$ ,  $D_4$ ,  $D_{1C}$  y  $D_{1D}$ ) (Clark y White, 1987; Waddington y O'Boyle, 1987; Gingrich y Caron, 1993, O'Dowd, 1993, Jackson y Westlind-Danielsson, 1994; Sugamori et al 1994, Sidhu, 1998; Missale et al. 1998). Se ha reportado, que los neuropéptidos que se localizan en ambas vías, se encuentran regulados diferencialmente por la dopamina. Cuando aumenta la densidad de receptores  $D_1$  (vía directa) se incrementan los niveles de expresión de la sustancia P y dinorfinas, asimismo cuando aumenta la densidad de receptores  $D_2$  (vía indirecta), se incrementa la expresión de encefalinas (Gerfen et al. 1990; Missale et al. 1998).

### 3.4 ASPECTOS CONDUCTUALES

Los reportes que indican el papel que desempeñan los ganglios basales sobre el control de las funciones motoras, parten de estudios clinicopatológicos desde hace más de un siglo. En estos reportes se establecen correlaciones entre las lesiones de los ganglios basales y las alteraciones motoras. Las evidencias clínicas y experimentales, han confirmado la relación e importancia que ejercen los ganglios basales sobre una gran variedad de aspectos motores (Kornhuber, 1974, DeLong y Georgopoulos, 1981, Graybiel et al 1994). Además se ha establecido el papel que desempeñan estos núcleos en otros aspectos cognitivos y psicomotores (Divac, 1977, Iversen, 1977; Nauta y Domesick 1978,

### A. NORMAL



### B. LESIÓN DE LA VÍA NIGROESTRIAL

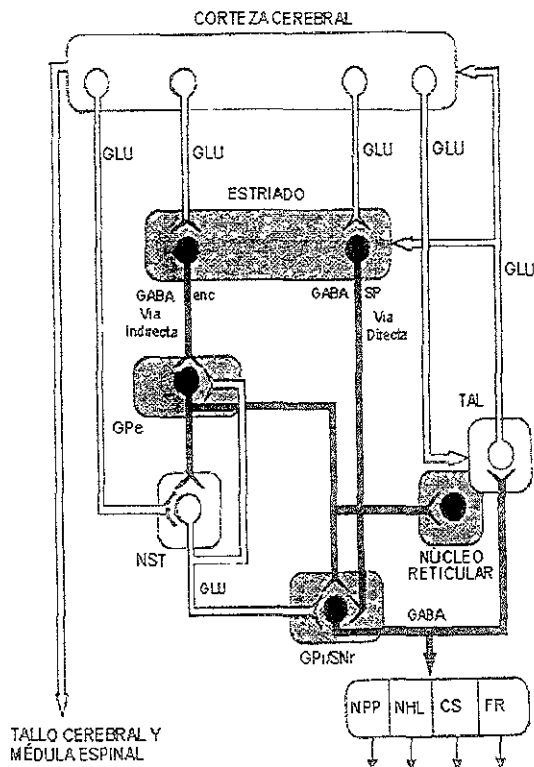


FIGURA 2. Modelo esquemático de la anatomía funcional del circuito motor corteza-ganglios basales-talamo-corteza, mostrando las vías paralelas directa e indirecta. Las flechas blancas representan las conexiones excitatorias, mientras que las flechas negras muestran las conexiones inhibitorias. A: Circuito normal. La vía directa incluye al Globo pálido interno (GPe) y la Substancia nigra *pars reticulata* (SNr), mientras que la vía indirecta incluye al Globo pálido externo (GPe) y al núcleo subtalámico (NST). La dopamina (DA) proveniente de la substancia nigra *pars compacta* (SNc) ejerce efectos diferenciales sobre las vías directa e indirecta, a través de la activación de los receptores dopaminérgicos  $D_1$  y  $D_2$  respectivamente. El GPe/SNr proyectan de regreso hacia la corteza cerebral vía Talamo (TAL) o es conyevada hacia otras estructuras cerebrales. NPP- núcleo pedunculo pontino; NHL- núcleo habenular lateral; CS- colículo superior; FR- formación reticular; GLU- glutamato; enc- encefalinas; SP- substancia P. B: Lesión de la vía nigroestriatal. Es el resultado de las alteraciones que se presentan después de la pérdida dopaminérgica en todo el circuito. Se presenta una hiperactividad glutamatergica del NST y probablemente es la causa de los síntomas parkinsonicos, ya que se incrementa la actividad del GPe/SNr y se sobreinhibe el circuito talamocortical. Modificado de Smith et. al. 1998.

Zigmond et. al 1990, Graybiel et al. 1994)

Como se mencionó anteriormente el estriado se compone de dos porciones, el putamen y en núcleo caudado (Moore et. al. 1971, Arbuthnot. 1978; DeLong y Georgopoulos, 1981; Takada et. al. 1985, Kubota et. al 1987; Goldman-Rakic y Selemon, 1990; Alexander y Crutcher, 1990) Las funciones motoras se realizan principalmente en el putamen, mientras que las funciones cognitivas se realizan en el núcleo caudado (Kunzle, 1975; Jones et. al. 1977; Kunzle, 1978, Goldman-Rakic y Selemon, 1990; Coté y Crutcher, 1991; Robbins y Everitt, 1992). Reportes electrofisiológicos, registrados durante la ejecución de tareas de movimiento han demostrado, que un grupo de neuronas del Putamen se activan de manera sincrónica, solamente cuando el brazo esta en movimiento, asimismo, la microestimulación de este grupo de neuronas provoca el movimiento del brazo (DeLong, 1974, Crutcher y DeLong, 1984). Otros estudios indican que la frecuencia de disparo de neuronas de la corteza precentral motora se altera, cuando se presenta una tarea de movimiento de un miembro (Thach, 1978; Tanji et. al 1980). Con lo que respecta al núcleo caudado, lesiones bilaterales de la corteza prefrontal dorsolateral de primates, produce déficit en la ejecución de tareas alternadas además de tareas que evalúan la capacidad de memoria espacial, mientras que lesiones de la corteza orbitofrontal, provocan deficiencias en la ejecución de tareas en donde hay que invertir objetos (Johnson y Rosvold, 1971; Goldman y Nauta, 1977 ).

### 3.5 ORGANIZACIÓN SINÁPTICA

Una gran variedad de reportes se han enfocado principalmente a describir la organización sináptica de las neuronas espinosas medianas, ya que son el principal blanco de las aferencias corticales ( Wilson y Groves, 1980, Somogyi et. al 1981, Bishop et al. 1982; Gerfen et al. 1990, Smith et al., 1998) Se ha reportado que el soma de las neuronas espinosas medianas y las porciones iniciales de las dendritas, reciben al menos dos tipos de sinapsis simétricas, un tipo contiene vesículas sinápticas pleomórficas pequeñas y el otro contiene vesículas pleomórficas grandes (Fox et. al. 1971, Gerfen y Young 1988; Smith y Bolam, 1990, Smith et. al. 1998). Las dendritas distales y proximales reciben sinapsis simétricas y asimétricas. (Gerfen et al. 1990) Las espinas dendríticas

se pueden dividir en dos porciones, la región del cuello de la espina, la cual recibe principalmente sinapsis simétricas con vesículas pleomórficas grandes y la región de la cabeza, que recibe sinapsis asimétricas con vesículas redondas pequeñas (Adinolfi y Pappas, 1968; Kemp y Powell, 1971, Kocsis et. al. 1977; Mensah, 1980; Tanaka, 1980; DiFiglia et al. 1980, Tanaka et. al. 1980; Smith et al. 1998).

Mediante estudios electrofisiológicos, se ha sugerido que los receptores dopaminérgicos  $D_2$  regulan, la actividad sináptica de las aferencias corticales que actúan sobre las neuronas espinosas de proyección (Brown y Arbuthnott, 1983; Freund et al 1984; Arbuthnott et. al. 1987, Rutherford et al 1988).

### 3.5.1 PROYECCIONES CORTICO-ESTRIATALES

En primates, las diferentes áreas corticales (Kunzle, 1975; Goldman y Nauta, 1977, Selemon y Goldman-Rackic, 1985, Flaherty y Gaybriel, 1991: 1993, Smith et. al. 1998) forman sinapsis asimétricas con las espinas de las dendritas de las neuronas espinosas medianas y contienen vesículas sinápticas redondas y pequeñas (Kemp y Powell, 1971, 1973; Somogyi et. al 1981; Smith y Bolam, 1990, Smith et al 1998).

### 3.5.2 PROYECCIÓN NIGROESTRIATAL

Muchos reportes han tratado de caracterizar el tipo de contacto y la distribución de las terminales sinápticas de la vía nigroestriatal (Fuxe et al. 1965; Hattori et. al. 1976, Groves, 1980; Pickel et. al. 1981; Freund et. al 1984, Kubota et al. 1987; Gerfen y Young 1988, Tashiro et. al 1989; Gerfen, 1992). Algunos estudios, en donde se emplea la recaptura de dopamina marcada (Descarries et al. 1980), junto con técnicas de inmunocitoquímica para localizar la enzima tiroxina hidroxilasa y dopamina han reportado que en las neuronas de la vía nigroestriatal, cerca del 80 % de las sinapsis son de tipo simétrico y lo establecen en su gran mayoría con la espinas dendríticas (Pickel et. al. 1981, Voorn y Buijs, 1987).

Estudios más recientes han reportado que el 6 % de los contactos sinápticos se realiza con el soma y con las dendritas proximales, el 35 % lo establecen con las dendritas

distales y finalmente el 59 % de las sinapsis se localizan en el cuello de las espinas dendríticas (Gerfen y Young, 1988), además las sinapsis contienen vesículas grandes redondas o pleomórficas (Groves et. al. 1994).

### 3.5.3 PROYECCIONES ESTRIATALES DE LA VÍA DIRECTA

La subpoblación de neuronas estriatales, que proyectan sobre la vía directa, establece contactos sinápticos con las neuronas del GPi-SNr, estimándose que el 12 % de los contactos se realizan con las dendritas proximales o con los somas, el 48 % con las dendritas distales y el 40 % lo establecen con el cuello de las espinas dendríticas, siendo del tipo simétrico (Wilson y Groves, 1980; DiFiglia et al. 1982; Bolam et al. 1983; Gerfen, 1987; Shink y Smith, 1995, Smith et. al. 1998)

### 3.5.4 PROYECCIONES ESTRIATALES DE LA VÍA INDIRECTA

La otra subpoblación de neuronas espinosas de proyección, inicialmente establece contactos sinápticos de tipo asimétrico con el GPe, estimándose que el 80 % lo realizan con el soma y las dendritas, además este núcleo emite una proyección a los núcleos de salida (DiFiglia et al. 1982; Somogyi et al. 1981; Totterdell et al. 1984; Smith et al. 1998) Este núcleo forma contactos sinápticos de tipo asimétrico con el NST (Shink y Smith, 1995; Bevan et. al. 1997), estimándose que el 31 % son con el soma, un 39 % con dendritas largas y 30 % con dendritas cortas (Smith et al. 1990, 1998). Cabe mencionar que muchas neuronas del NST proyectan de forma recurrente al GPe, estableciéndose una relación recíproca entre estos dos núcleos (Shink et. al. 1996; Smith et. al. 1998). Finalmente se establece una proyección del NST a los núcleos de salida, formando contactos de tipo asimétrico con el soma y las dendritas (Shink y Smith, 1995, Smith et al. 1998).

### 3.5.5 PROYECCIONES INTRAESTRIATALES

Las interneuronas colinérgicas (Fox et. al. 1971; Butcher y Butcher, 1974; Braak y Braak, 1982, Chang y Kitai, 1982; DiFiglia et al. 1982; Bolam et. al. 1984; Cuello, 1987, Wilson, 1998), establecen contactos sinápticos simétricos con el soma, dendritas



proximales y con las espinas dendríticas, asimismo se establecen contactos asimétricos con las dendritas distales secundarias y terciarias de las neuronas espinosas medianas de proyección (Di Figlia et. al. 1982; Bolam et. al. 1984; Bolam e Izzo, 1987; Gerfen y Young, 1988; Kawaguchi et. al. 1995). La región proximal de las interneuronas que contienen somatostatina/óxido nítrico sintetasa, establecen contactos sinápticos asimétricos y simétricos, la región distal forman contactos asimétricos con las neuronas espinosas medianas de proyección (Di Figlia et. al. 1982; Takagi et. al. 1983, Gerfen y Young, 1988; Wilson, 1990; Kawaguchi et. al. 1995; Wilson, 1998) (figura 3).

#### 4. INTERACCIÓN ENTRE NEUROTRANSMISORES

Los ganglios basales son un grupo de núcleos que trabajan en estricta sinergia con la corteza cerebral, en donde se relacionan funciones motoras y motivacionales. Estos núcleos contienen una marcada diversidad de sustancias neuroactivas, que están organizadas en subsistemas funcionales que trabajan de manera balanceada. Cualquier alteración de este balance da como resultado importantes alteraciones, como las que se observan en las enfermedades neurodegenerativas que afectan a los ganglios basales (Graybiel, 1990, Albin, et. al. 1989; Di Chiara et. al. 1994).

Los modelos clásicos sobre la interacción entre neurotransmisores parten principalmente de observaciones clínicas, ya que tanto los agonistas a receptores dopaminérgicos así como los antagonistas de los receptores muscarínicos, inducen algunas mejorías en los síntomas de la enfermedad de Parkinson. Se ha establecido que la dopamina y la acetilcolina convergen en las neuronas espinosas medianas estriatales (Di Chiara y Morelli, 1993).

Evidencias experimentales indican que la dopamina ejerce efectos inhibitorios sobre la liberación de acetilcolina (Butcher y Butcher, 1974, Arbilla et. al. 1987, Graybiel, 1990, Wilson, 1998). Asimismo la estimulación de los receptores dopaminérgicos, expresados por las interneuronas colinérgicas, inhiben la liberación de acetilcolina (Calne, 1978; Scatton, 1982, Bartholini, 1987; Kawaguchi et al. 1995). La administración de fármacos como la L-DOPA o la apomorfina inhiben la liberación de acetilcolina en el estriado, sin

proximales y con las espinas dendríticas, asimismo se establecen contactos asimétricos con las dendritas distales secundarias y terciarias de las neuronas espinosas medianas de proyección (Di Figlia et. al. 1982; Bolam et. al. 1984; Bolam e Izzo, 1987, Gerfen y Young, 1988; Kawaguchi et. al. 1995). La región proximal de las interneuronas que contienen somatostatina/óxido nítrico sintetasa, establecen contactos sinápticos asimétricos y simétricos, la región distal forman contactos asimétricos con las neuronas espinosas medianas de proyección (Di Figlia et. al. 1982; Takagi et. al. 1983; Gerfen y Young, 1988; Wilson, 1990; Kawaguchi et. al. 1995, Wilson, 1998) (figura 3).

#### 4. INTERACCIÓN ENTRE NEUROTRANSMISORES

Los ganglios basales son un grupo de núcleos que trabajan en estricta sinergia con la corteza cerebral, en donde se relacionan funciones motoras y motivacionales. Estos núcleos contienen una marcada diversidad de sustancias neuroactivas, que están organizadas en subsistemas funcionales que trabajan de manera balanceada. Cualquier alteración de este balance da como resultado importantes alteraciones, como las que se observan en las enfermedades neurodegenerativas que afectan a los ganglios basales (Graybiel, 1990; Albin, et. al. 1989, Di Chiara et. al. 1994)

Los modelos clásicos sobre la interacción entre neurotransmisores parten principalmente de observaciones clínicas, ya que tanto los agonistas a receptores dopaminérgicos así como los antagonistas de los receptores muscarínicos, inducen algunas mejorías en los síntomas de la enfermedad de Parkinson. Se ha establecido que la dopamina y la acetilcolina convergen en las neuronas espinosas medianas estriatales (Di Chiara y Morelli, 1993)

Evidencias experimentales indican que la dopamina ejerce efectos inhibitorios sobre la liberación de acetilcolina (Butcher y Butcher, 1974, Arbilla et. al. 1987, Graybiel, 1990, Wilson, 1998). Asimismo la estimulación de los receptores dopaminérgicos, expresados por las interneuronas colinérgicas, inhiben la liberación de acetilcolina (Calne, 1978; Scatton, 1982, Bartholini, 1987; Kawaguchi et. al. 1995). La administración de fármacos como la L-DOPA o la apomorfina inhiben la liberación de acetilcolina en el estriado, sin

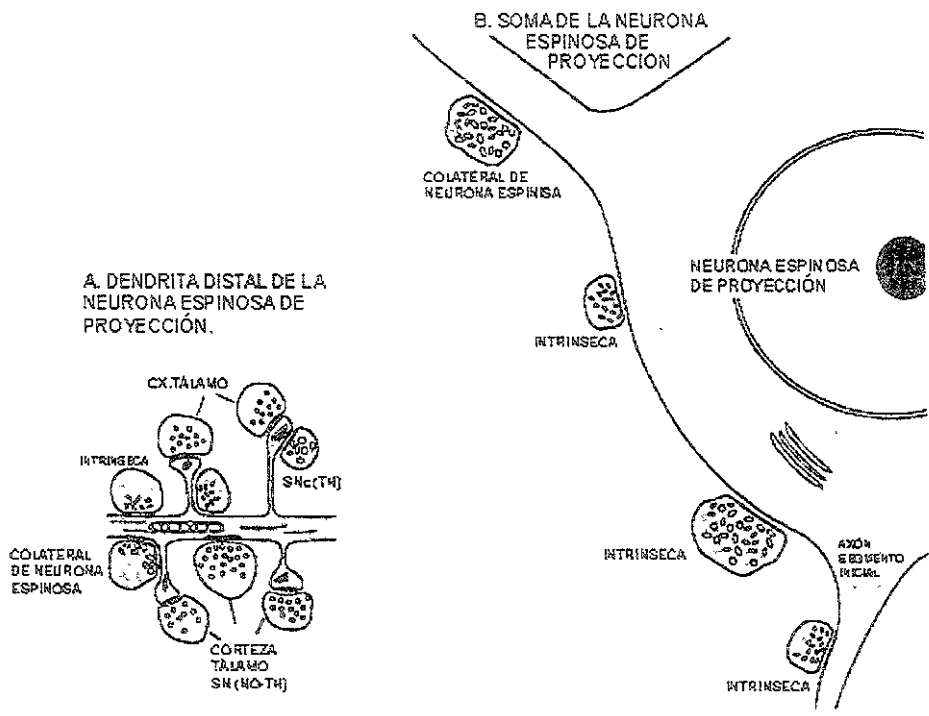


FIGURA 3: En esta figura se muestra esquemáticamente los principales contactos sinápticos establecidos con la neurona espinosa mediana de proyección. A) las dendritas distales presentan principalmente contactos sinápticos de tipo asimétrico, y ocasionalmente establecen contacto con las dendritas. Las aferencias de la corteza, tálamo y axones de la SNc (TH), además de las colaterales de otras neuronas espinosas de proyección así como de neuronas espinosas de tipo II (neuronas sin espinas), forman contactos sinápticos simétricos con las espinas dendríticas, específicamente en la región de la cabeza de la espina y ocasionalmente con las dendritas B) Las aferencias que establecen contacto sináptico con el soma y en las regiones proximales de las neuronas espinosas principalmente provienen de las interneuronas y de las arborizaciones axónicas colaterales de otras neuronas espinosas, estableciendo contactos sinápticos de tipo simétrico, aunque son de baja densidad. Modificado de Wilson (1998).

embargo este efecto puede ser bloqueado cuando se aplican antagonistas dopaminérgicos (Graybiel, 1990; DeBoer et. al. 1993; Kawaguchi et. al. 1995; Wilson, 1998) De acuerdo a lo anterior, se afirmó que la función dopaminérgica depende en parte de la inhibición de las interneuronas colinérgicas (Di Chiara y Morelli, 1993). Se ha reportado que los receptores dopaminérgicos  $D_1$  y  $D_2$  ejercen efectos diferenciales (Smith y Bolam, 1990, Gerfen et. al. 1990; Gerfen, 1992), estableciéndose que la estimulación directa de los receptores  $D_1$ , facilita la liberación de acetilcolina de manera transináptica, mientras que la estimulación de los receptores  $D_2$  la inhibe (Stoof et. al. 1992, Di Chiara y Morelli, 1993; Di Chiara et al. 1994).

Las proyecciones glutamatérgicas cortico-estriatales, además de las colaterales del NST y de algunas fibras talámicas, ejercen funciones excitatorias dentro del estriado, estableciéndose una interacción entre las terminales dopaminérgicas, colinérgicas y glutamatérgicas en las neuronas espinosas medianas (Smith y Bolam, 1990; Graybiel, 1990, Carlsson y Carlsson 1990; Wilson, 1998)

Por otro lado, las neuronas espinosas medianas de proyección, que contienen GABA inhiben la actividad de las neuronas dopaminérgicas de la vía nigro-estriatal haciendo contacto en dos sitios principalmente en los cuerpos celulares y en las terminales axónicas (Bartholini, 1987; Smith y Bolam 1990). De acuerdo a reportes fisiológicos, la microinyección de antagonistas GABAérgicos en la sustancia nigra y en el estriado, provoca que se incremente el recambio de dopamina. Sin embargo este efecto es anulado cuando se administra GABA, es decir se inhibe la liberación de dopamina (Bartholini, 1976) Este neurotransmisor tiene una influencia inhibitoria sobre las interneuronas colinérgicas (Scatton, 1987)

La activación o inhibición de los neurotransmisores ejercen efectos funcionales sobre los neuropéptidos estriatales (Kubota et al. 1986; Reiner y Anderson, 1990, Pickel et. al. 1992; Kowalsky y Giraud, 1993; Angulo y McEwen, 1994). Como se mencionó anteriormente, los neuropéptidos se encuentran distribuidos de manera diferencial en ambas vías (Graybiel, 1990, Gerfen et al. 1990, Gerfen, 1992). Se ha reportado que la interacción entre la dopamina, GABA y encefalinas, estimulan la actividad locomotora en la rata (Kubota et. al. 1986; Scheel-Kruger, 1986, Herrera-Marschitz et al. 1986; Voorn et

al 1987; Li et. al. 1988; Reid et. al. 1990) Asimismo la sustancia P, neuroquininas y dinorfinas también estimulan esta actividad (Weber et. al. 1982, Herrera-Marschitz et. al. 1986), sin embargo, cuando se administra naloxona (antagonista de los receptores opioáceos) esta actividad se suprime (Smith et. al. 1993; Angulo y McEwen, 1994).

Estos opiáceos inhiben la actividad de las neuronas estriatales GABAérgicas, por consiguiente se presenta la inhibición de las neuronas que proyectan al globo pálido (Dewar et. al. 1987; Austin y Kalivas, 1990) Además esta inhibición de las proyecciones GABAérgicas del globo pálido, suprime la actividad de las neuronas GABAérgicas de la SNr y finalmente el tálamo es inhibido (Al-Shabibi y Davies, 1981; Herrera-Marschitz et al. 1986; Graybiel, 1990; Reiner y Anderson, 1990; Angulo y McEwen, 1994, White et. al. 1994).

El efecto regulador de la dopamina sobre el neuropéptido encefalina se ha estudiado a través de investigaciones realizadas en ratas, donde la dopamina es depletada unilateralmente de la SNC con 6-OHDA, junto con estos estudios, se ha reportado mediante técnicas inmunocitoquímicas, que hay un incremento ipsilateral en los niveles de ARNm de metonina-encefalina y preproencefalinas (Graybiel, 1990, Pickel et al. 1992, Smith et al. 1993, Wilson, 1998). De acuerdo a estos resultados, la dopamina ejerce una inhibición tónica sobre los neuropéptidos dentro del estriado de ratas.

Por otro lado, se ha reportado que las neuronas espinosas estriatales que proyectan en la vía directa expresan dinorfinas, neuroquinina A, ácido glutámico descarboxilasa y sustancia P (Graybiel, 1990, Kawaguchi et. al. 1995, Wilson, 1998) Se ha reportado, que la administración diaria de apomorfina, induce incremento en los niveles de dinorfinas de manera dosis-dependiente (Reul y deKloet, 1985, Herrera-Marschitz et. al. 1986; Li et. al. 1988). (figura 4).

Funcionalmente, la administración de sustancia P dentro de la sustancia nigra, produce despolarización de estas neuronas (Davies y Dray, 1976), estos resultados sugieren que esta despolarización se debe a la liberación de sustancia P, por lo que se propone que las neuronas espinosas, que contienen GABA/sustancia P modulan la liberación de dopamina en la vía nigroestriatal (Kubota et. al. 1986, Scheel-Kruger, 1986, Herrera-Marschitz et. al. 1986; Reid et al. 1990; Kawaguchi et al. 1995).



Se ha considerado al estriado como una estructura homogénea en base a su citoarquitectura. El empleo de técnicas inmunocitoquímicas para localizar neurotransmisores, junto con métodos de autorradiografía para la localización de los sitios de unión de los receptores, ha revelado que dentro de este núcleo, las neuronas espinosas medianas de proyección, están agrupadas en áreas de alta densidad separadas por áreas de menor densidad, es decir forman compartimentos, los cuales pueden distinguirse inicialmente de acuerdo a la densidad de los neurotransmisores y a sus receptores (Gerfen, 1987, Graybiel, 1990, Wilson, 1998). Otros estudios, indican que esta compartimentalización, puede ser caracterizada en base a la organización "entradas-salidas" que presenta el estriado (Gerfen, 1992). Estos compartimentos son denominados "Parches" o "Estriosomas" y "Matriz" (Graybiel, 1990; Gerfen, 1992a). Los primeros indicios de esta organización, reportan que los parches presentan una alta concentración de receptores a opiáceos del subtipo  $\mu$  (Herkenmhan y Pert, 1981; Graybiel, 1990). Posteriormente, a través de técnicas bioquímicas se detectó la presencia de acetilcolinesterasa en los compartimentos llamados estriosomas, en este compartimento se presentó una baja actividad de acetilcolinesterasa y coincide con la presencia de los receptores a opiáceos del subtipo  $\mu$  (Gerfen, 1987, Gerfen et. al. 1990, Graybiel, 1990, Desban et. al. 1993; Martone et al 1993). En los estriosomas se encontraron altas concentraciones de sustancia P y encefalinas, y altas concentraciones de receptores a opiáceos (Graybiel et. al 1981; Bolam et. al. 1988; Herkenmhan y Pert, 1981; Graybiel, 1990; Gerfen, 1992). Mientras que en la matriz se presentó, que la acetilcolinesterasa se encuentra de una forma muy activa, así mismo a través de técnicas inmunocitoquímicas, se detectó la presencia de somatostatina y calbindina (Herkenmhan y Pert, 1981, Gerfen, 1985, Bolam et. al. 1988; Gerfen, 1992, Desban et. al 1993).

Otros reportes indican, que la segregación que se presenta en el estriado, es proyectada hacia diferentes áreas, como las neuronas que se encuentran en los parches proyectan preferencialmente a la SNc y al GPe (Goldman-Rackic y Selemon, 1990, Gerfen, 1992a), y las neuronas de la matriz proyectan principalmente a la SNr, al GPi y NST (Goldman-Rackic y Selemon, 1990, Smith y Bolam, 1990; Gerfen, 1992). Las proyecciones dopaminérgicas que vienen de la SNc, también presentan una segregación

dentro del estriado, es decir las neuronas localizadas en la porción dorsal de la SNc (A8.A9), el área ventral tegmental (A10) y las células retrorubrales (del pedunculo pontino) del grupo (A8), proyectan a la matriz (Dahström y Fuxe, 1964; Graybiel, 1990). Mientras que las neuronas de la porción ventral de la SNc (A9) proyectan a los estriosomas (Gerfen, 1987, 1992). Esta segregación implica una regulación diferencial, en base a los circuitos parches-matriz, además se sugiere que las terapias en base a drogas dopaminérgicas y a los tratamientos con trasplantes, pueden tener efectos funcionales diferentes, dependiendo si el tratamiento esta enfocado principalmente a los parches o a la matriz (Graybiel, 1990; Angulo y McEwen, 1994).

Por otro lado, la matriz estriatal recibe proyecciones de las capas superficiales corticales (capa V) y de las capas supragranulares y de la corteza sensoriomotora (Gerfen 1984; Graybiel, 1990, Gerfen, 1992), mientras que los parches estriatales reciben proyecciones de las capas profundas (V y VI) de la corteza, amígdala, corteza prefrontal y de áreas relacionadas con el sistema límbico (Gerfen, 1984, Graybiel, 1990; Gerfen, 1992) Esta segregación implica, que probablemente existe una relación entre el sistema límbico-estriosomas, para regular la innervación dopaminérgica con la información motivacional del sistema límbico, así mismo puede haber una relación entre la matriz estriatal y funciones sensoriales-motoras (Graybiel, 1990, Smith y Bolam, 1990)

## **5. MODELOS EXPERIMENTALES DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.**

Diversos químicos neurotóxicos han sido utilizados como herramientas para estudiar los mecanismos básicos que regulan la función neural tanto a nivel celular, molecular y conductual de diferentes organismos (ratas, ratones, monos entre otros). La finalidad de generar estos modelos, es recrear algunos de los eventos que suceden en las enfermedades neurodegenerativas que se presentan y afectan a los humanos (Anaya, 1997). Entre las neurotoxinas selectivas, que han sido ampliamente utilizadas en animales experimentales, y que afectan a las neuronas productoras de dopamina, se encuentran



dentro del estriado, es decir las neuronas localizadas en la porción dorsal de la SNc (A8,A9), el área ventral tegmental (A10) y las células retrorubrales (del pedunculo pontino) del grupo (A8), proyectan a la matriz (Dahström y Fuxe, 1964; Graybiel, 1990). Mientras que las neuronas de la porción ventral de la SNc (A9) proyectan a los estriosomas (Gerfen, 1987, 1992). Esta segregación implica una regulación diferencial, en base a los circuitos parches-matriz, además se sugiere que las terapias en base a drogas dopaminérgicas y a los tratamientos con transplantes. pueden tener efectos funcionales diferentes, dependiendo si el tratamiento esta enfocado principalmente a los parches o a la matriz (Graybiel, 1990, Angulo y McEwen, 1994).

Por otro lado, la matriz estriatal recibe proyecciones de las capas superficiales corticales (capa V) y de las capas supragranulares y de la corteza sensoriomotora (Gerfen, 1984; Graybiel, 1990, Gerfen, 1992), mientras que los parches estriatales reciben proyecciones de las capas profundas (V y VI) de la corteza, amígdala, corteza prelímbica y de áreas relacionadas con el sistema límbico (Gerfen, 1984, Graybiel, 1990, Gerfen, 1992). Esta segregación implica, que probablemente existe una relación entre el sistema límbico-estriosomas, para regular la inervación dopaminérgica con la información motivacional del sistema límbico, así mismo puede haber una relación entre la matriz estriatal y funciones sensoriales-motoras (Graybiel, 1990, Smith y Bolam, 1990)

## **5. MODELOS EXPERIMENTALES DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.**

Diversos químicos neurotóxicos han sido utilizados como herramientas para estudiar los mecanismos básicos que regulan la función neural tanto a nivel celular, molecular y conductual de diferentes organismos (ratas, ratones, monos entre otros). La finalidad de generar estos modelos, es recrear algunos de los eventos que suceden en las enfermedades neurodegenerativas que se presentan y afectan a los humanos (Anaya, 1997). Entre las neurotoxinas selectivas, que han sido ampliamente utilizadas en animales experimentales, y que afectan a las neuronas productoras de dopamina, se encuentran

la 6-hidroxidopamina (6-OHDA) y el 1-metil-4, fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) (Winn, 1991).

Los modelos animales de la degeneración nigral, han tenido gran importancia, ya que se puede definir la naturaleza anatómica, ultraestructural, fisiológica, bioquímica y conductual de esta degeneración. La alteración dopaminérgica, generalmente puede ser evaluada de diversas maneras: cuantificando la reducción de células de la SNc, midiendo la actividad de Tirosina hidroxilasa (TH) (enzima limitante en la síntesis de catecolaminas), y midiendo las concentraciones de dopamina dentro del estriado (Alexi et. al. 2000). La destrucción unilateral de las neuronas de la SNc, trae como consecuencia un desbalance en el funcionamiento de los receptores, tanto presinápticos (hemisferio no lesionado) como postsinápticos (hemisferio lesionado). Este desbalance en la transmisión dopaminérgica, provoca que los organismos presenten asimetrías motoras bilaterales, las cuales son más evidentes cuando se administran drogas que afectan el sistema dopaminérgico (Alexi et al. 2000), estableciéndose correlaciones entre el grado de lesión anatómica y la conducta. Conductualmente los animales lesionados giran en círculos ipsilaterales o contralaterales, cuando se administran fármacos que alteran el sistema dopaminérgico (Alexi et al. 2000).

El primer modelo animal empleado, fue la axotomía mecánica. La transección de la vía nigroestriatal, provoca la degeneración progresiva de los cuerpos celulares dopaminérgicos de la SNc (Knusel et. al. 1992; Beck et al. 1995; Alexi y Hefti, 1996; Tseng et. al. 1997; Alexi et. al. 2000), aproximadamente entre el 40-60 % de las neuronas degeneran 2 semanas después de la lesión (Beck et al. 1995; Alexi y Hefti. 1996; Brecknell et. al. 1995, Alexi et al. 2000). Sin embargo es importante resaltar que el grado de degeneración depende de la extensión y proximidad de la lesión a los cuerpos de las neuronas (Leach et. al. 1993; Venero et. al. 1997).

### **5.1 MODELO CON 6-HIDROXIDOPAMINA (6-OHDA)**

La administración unilateral de la neurotoxina 6-OHDA, en el haz medial del cerebro anterior o bien sobre la SNc, provoca que la aferencia dopaminérgica estriatal degenera, induciendo cambios fisiológicos, bioquímicos y morfológicos (Cohen y Heikkila, 1974; Wilson, 1998; Alexi et. al. 2000). La 6-OHDA es incorporada al interior de las neuronas

a través de los sistemas de recaptura de dopamina de alta afinidad, esto provoca la acumulación intraneural de compuestos citotóxicos, que producen la degeneración de las terminales axónicas y de los cuerpos celulares (Ungerstedt 1968, 1971; Heikkila y Cohen, 1971; Zigmond et. al. 1990). La muerte de las células dopaminérgicas, presenta un patrón bifásico, es decir, la pérdida de neuronas inicia durante las primeras 12 horas después de la inyección de la neurotoxina y la máxima degeneración aparece entre los 4-6 días postlesión (Jeon et. al. 1995; Alexi et. al. 2000). Después de la lesión, las ratas presentan una tendencia espontánea a girar (aunque disminuye con el tiempo) hacia el lado de la lesión (ipsilateral), además disminuyen su conducta exploratoria espontánea y presentan adipsia y afagia (Ungerstedt, 1971b, Miller y Beninger, 1991; Fornaguera et. al. 1993). La conducta de giro puede ser provocada con la administración de algunas drogas particularmente, aquellas que activan los sistemas dopaminérgicos (Ungerstedt y Arbuthnot, 1970; Ungerstedt, 1971c)

Dos drogas han sido empleadas de manera común para inducir la conducta de giro y establecer una correlación funcional de la vía nigroestriatal. Estas drogas son la amfetamina y la apomorfina. La amfetamina actúa sobre las terminales presinápticas, provocando la liberación de grandes concentraciones de dopamina en el lado no lesionado (contralateral) induciendo sobreactividad, provocando que el organismo gire hacia el lado ipsilateral a la lesión, es decir, donde hay menos concentración de dopamina. La apomorfina actúa sobre las terminales postsinápticas, produciéndose una mayor actividad en el lado ipsilateral a la lesión, por lo tanto el animal gira hacia el lado que tiene menos dopamina (Ungerstedt, 1971c; Miller y Beninger, 1991; Alexi et. al. 2000). El número de giros que el animal presenta después del tratamiento, se pueden registrar sin dificultad y provee una estimación confiable del grado de depleción de dopamina (Schmit et. al. 1982). De acuerdo a esto, si a un animal depletado unilateralmente de dopamina se le administra apomorfina y se registran 200 giros ó más en 30 minutos, se puede afirmar que la denervación de dopamina estriatal es de un 95 % o más (Ungerstedt. 1971, Hefti et al. 1980, Dravid et. al. 1984).

## 5.2 MODELO CON 1-metil-4, fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP)

El MPTP es una toxina que afecta las mitocondrias, causando la degeneración selectiva de neuronas de la SNc (Alexi et. al. 2000). En animales experimentales el MPTP es convertido al ion  $MPP^+$ , el cual es reconocido y tomado por el sistema de recaptura de dopamina de alta afinidad de las neuronas dopaminérgicas (Ballard et. al. 1985; Chiva et al. 1985; Alexi et. al. 2000). Una vez incorporado este ión, daña el complejo I de la cadena respiratoria de las mitocondrias induciendo la muerte celular (Sonsalla et. al. 1992, Alexi et al. 2000). La degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la SNc se hace más evidente entre 1-2 semanas después de la inyección (Jackson-Lewis et. al. 1995, Tatton y Kish, 1997; Alexi et al. 2000). La administración sistémica de MPTP reduce entre el 80-85 % el número de neuronas dopaminérgicas, asimismo de la concentración de dopamina y de sus metabolitos, provocando en algunos mamíferos, un síndrome neurológico con síntomas parecidos a los presentados por personas con la enfermedad de Parkinson (Heikkila et. al.1984; Langston et. al 1984; Hallman et al 1985). Entre los organismos más sensibles a esta neurotoxina se han reportado a los humanos, gatos, perros, roedores y monos. La administración periférica de MPTP o el ion 1-metil-4-fenilpindina ( $MPP^+$ ), en monos y roedores, produce sólo la pérdida parcial de la dopamina estriatal y no se presentan déficits motores persistentes (Heikkila et. al 1985; Johannessen et al 1985; Donnan et. al. 1987; Nishi et. al.1989)

En monos la infusión unilateral de MPTP, a través de las arterias carótidas produce hemiparkinsonismo, el cual se caracteriza por presentar rigidez de los miembros, temblor en reposo, bradiquinesia, dificultad para iniciar movimientos y heminegligencia (Burns et. al. 1983), además de presentar giro espontaneo unilateral, que puede ser revertido con la aplicación sistémica de agonistas dopaminérgicos (Davis et. al 1979, Bankiewicz et al 1986). La administración bilateral y sistémica de MPTP en monos, provoca severas deficiencias motoras como la bradiquinesia, aquinesia, rigidez muscular, temblor y postura encorvada, síntomas semejantes a los que presentan las personas afectadas por la enfermedad de Parkinson (Langston et. al. 1984; Carman et al. 1991).

Estudios bioquímicos en primates tratados con MPTP han demostrado, que se incrementa la actividad GABAérgica de la vía indirecta (Marsden, 1992) y las neuronas de

la SNc disminuyen la expresión de la enzima calbindina (Lavoie y Parent, 1991; German et. al. 1992, Alexi et. al. 2000). Existen otros modelos que inducen la degeneración de las neuronas dopaminérgicas, sin embargo su empleo es menos frecuente como la metanfetamina, 3-NP, MA y rotenone (Heikkilä et al. 1985; Sonsalla et. al. 1992; DiMonte et. al. 1996; Acikgoz et. al. 1998; Stephans et. al. 1998; Alexi et. al. 2000)

## 6. CONSECUENCIAS DE LA DEPLECIÓN DOPAMINÉRGICA

La lesión unilateral de la vía nigroestriatal con la neurotoxina selectiva 6-OHDA da como resultado la depleción permanente de dopamina en el estriado ipsilateral a la lesión. La integración de respuestas motoras se alteran, se incrementa la densidad de los receptores dopaminérgicos induciendo desequilibrio en los sistemas de neurotransmisores y neuromoduladores (Ungerstedt, 1968; Ungerstedt y Arbuthnott, 1970).

### 6.1 FUNCIONALES

La denervación dopaminérgica estriatal provoca que aumente la densidad de los receptores  $D_2$  y disminuya la de los receptores  $D_1$  (Joyce, 1991; Radja et. al. 1993, Qin et. al. 1994), estas alteraciones inducen cambios funcionales dentro de la circuitería de los ganglios basales (Albin et. al. 1989; Alexander y Crutcher, 1990; DeLong, 1990, Calabresi et. al. 1993) Se ha propuesto que debido a que la dopamina ejerce funciones diferenciales sobre la frecuencia de disparo de las neuronas espinosas de proyección, en la vía directa se decreta esta actividad, mientras que en la vía indirecta aumenta esta frecuencia de disparo (DeLong, 1990; Greenamyre, 1993; Calabresi et. al. 1993). Registros extracelulares de neuronas espinosas de proyección han mostrado que la depleción provoca: 1) cambios en las propiedades intrínsecas de la membrana (como potencial de reposo, resistencia de la membrana, relación corriente-voltaje), 2) pérdida de la influencia inhibitoria tónica de la dopamina endógena en las células estriatales, 3) incremento en la liberación de neurotransmisores excitatorios (glutamato) de las terminales estriatales, y 4) alteración de la sensibilidad de los receptores postsinápticos a diferentes neurotransmisores (Calabresi et. al. 1993). En registros intracelulares *in vitro* se induce

la SNc disminuyen la expresión de la enzima calbindina (Lavoie y Parent, 1991; German et. al. 1992; Alexi et. al. 2000). Existen otros modelos que inducen la degeneración de las neuronas dopaminérgicas, sin embargo su empleo es menos frecuente como la metanfetamina, 3-NP, MA y rotenone (Heikkila et. al. 1985; Sonsalla et. al. 1992; DiMonte et. al. 1996; Acikgoz et. al. 1998; Stephans et. al. 1998; Alexi et. al. 2000).

## 6. CONSECUENCIAS DE LA DEPLECIÓN DOPAMINÉRGICA

La lesión unilateral de la vía nigroestriatal con la neurotoxina selectiva 6-OHDA da como resultado la depleción permanente de dopamina en el estriado ipsilateral a la lesión. La integración de respuestas motoras se alteran, se incrementa la densidad de los receptores dopaminérgicos induciendo desequilibrio en los sistemas de neurotransmisores y neuromoduladores (Ungerstedt, 1968; Ungerstedt y Arbuthnott, 1970).

### 6.1 FUNCIONALES

La denervación dopaminérgica estriatal provoca que aumente la densidad de los receptores  $D_2$  y disminuya la de los receptores  $D_1$  (Joyce, 1991; Radja et. al. 1993; Qin et. al. 1994), estas alteraciones inducen cambios funcionales dentro de la circuitería de los ganglios basales (Albin et. al. 1989; Alexander y Crutcher, 1990; DeLong, 1990, Calabresi et. al. 1993). Se ha propuesto que debido a que la dopamina ejerce funciones diferenciales sobre la frecuencia de disparo de las neuronas espinosas de proyección, en la vía directa se decremента esta actividad, mientras que en la vía indirecta aumenta esta frecuencia de disparo (DeLong, 1990; Greenamyre, 1993; Calabresi et. al. 1993). Registros extracelulares de neuronas espinosas de proyección han mostrado que la depleción provoca 1) cambios en las propiedades intrínsecas de la membrana (como potencial de reposo, resistencia de la membrana, relación corriente-voltaje), 2) pérdida de la influencia inhibitoria tónica de la dopamina endógena en las células estriatales, 3) incremento en la liberación de neurotransmisores excitatorios (glutamato) de las terminales estriatales, y 4) alteración de la sensibilidad de los receptores postsinápticos a diferentes neurotransmisores (Calabresi et. al. 1993). En registros intracelulares *in vitro* se induce

descarga tónica de las células así como también rectificación de la membrana, cuando se inyecta corriente despolarizante, aparecen potenciales postsinápticos despolarizantes espontáneos. aumenta la actividad sináptica espontánea, la cual se asocia a cambios en las propiedades intrínsecas de la membrana, se modifica la respuesta farmacológica de los receptores  $D_1$  y  $D_2$ , reportándose alteraciones en el sistema de segundos mensajeros (Calabresi et. al. 1987; Calabresi et al. 1993, Galarraga et. al. 1987) Estos resultados deben ser interpretados cuidadosamente, ya que reportes relacionados con la ultraestructura muestran que el estriado contralateral a la denervación se encuentra severamente alterado (Avila-Costa 1996).

## 6.2 NEUROQUÍMICAS

La depleción de dopamina altera la expresión del ARNm de algunos neuropéptidos y neurotransmisores (Sivam et al. 1987), se incrementa la concentración de ARNm del GABA, preproencefalina y serotonina (Vernier et. al. 1988; Descarries et. al. 1992) Asimismo aumentan, por un lado de los niveles de ARNm de preproencefalina-A (PPE-A) (vía indirecta) y por otro lado disminuyen los niveles de expresión del ARNm de la preproencefalina-B (PPE-B) (vía directa) (Henry et. al. 1999) Mientras que la concentración de ARNm de la sustancia P y dinorfinas se decrecienta (Voorn et al. 1987, Smith et al. 1993) También se ha observado, que se incrementa la liberación de acetilcolina y aumento en los sitios de recaptura (DeBoer et. al. 1993, Joyce, 1991a), asimismo se pierde el control inhibitorio que ejerce la serotonina sobre la liberación de acetilcolina (Joyce, 1991; Descarries et. al. 1992).

Se ha encontrado que después de la lesión, se incrementa la expresión de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) en ambos estriados, predominando esta expresión en el lado ipsilateral, por lo que se piensa, que los productos liberados por las neuronas lesionadas, son las responsables de la producción de gliosis reactiva (Jedrzejewska et al. 1990, Sheng et al. 1993).

### 6.3 ULTRAESTRUCTURALES

La depleción de dopamina, además de inducir alteraciones fisiológicas, bioquímicas y conductuales, produce alteraciones ultraestructurales. Roberts y DiFiglia (1990) lesionaron el estriado de ratas con ácido quinolínico y reportaron un decremento en el número de sinapsis axoespinosas desde las dos semanas postlesión, asimismo, encontraron aumento en el tamaño de los botones sinápticos. La lesión del haz medial del cerebro anterior con 6-OHDA modifica los blancos postsinápticos y la especialidad sináptica (Avila-Costa et. al. 1998). Pickel y cols (1992) lesionaron ratas neonatas y las analizaron a los 30-60 días de edad, e Ingham y cols. (1991 y 1993), observaron ratas adultas a los 12, 26 días y a los 13 meses después de la lesión. Estos estudios reportaron que el estriado denervado presenta mayor número de contactos axodendríticos, además los botones sinápticos son más grandes, comparados con las ratas control desde los doce días postlesión. Ingham y colaboradores (1993) reportaron que en los animales control (sin lesión) de 13 meses de edad, que correspondían al tiempo postlesión de los animales experimentales, presentaron el mismo incremento en el tamaño de los botones sinápticos que los animales lesionados. Estos autores indican que las alteraciones que encontraron en los animales control, son inherentes a las alteraciones que se observan en la vejez (Ingham et. al. 1993). Por otra parte, Jedrzejewska y cols. (1990) reportaron que con esta lesión, se observan cuerpos multivesiculares, células oscuras, y alteraciones en los organelos, principalmente las mitocondrias que se encontraron hinchadas y con la matriz oscura.

Además de los hallazgos anteriores, algunos autores han observado que después de la lesión unilateral el estriado contralateral presenta cambios degenerativos significativos en los blancos postsinápticos y la presencia de células oscuras (Jedrzejewska et al. 1990; Ingham et. al. 1993, Avila-Costa, 1996).

Ahora bien, en estudios realizados en nuestro laboratorio se ha demostrado, que muestras de núcleo caudado de pacientes con enfermedad de Parkinson (Colín, 1994) así como de ratas con depleción dopaminérgica (Avila-Costa, 1996; Avila-Costa et al 1998) a diferentes tiempos postlesión, presentan un incremento en el tamaño de los botones presinápticos, cambios en los blancos postsinápticos, aumento en el número de



contactos establecidos con la misma estructura, así como también degeneración neuronal, estableciéndose una correlación entre el desarrollo natural de la enfermedad y lo que se observa cuando se inducen estas alteraciones dentro del núcleo caudado (Avila-Costa et al., 1998). Más aún, Avila-Costa (1996) reportó que después de la lesión unilateral, no sólo se observan las alteraciones ipsilaterales anteriormente descritas es decir, después de 40 días el caudado contralateral a la lesión también presenta alteraciones ultraestructurales importantes, llegando a la conclusión de que dicho caudado no puede tomarse como control.

## 7. TRATAMIENTOS EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

Las diferentes terapias que se han empleado para el potencial tratamiento de la enfermedad de Parkinson, se han enfocado principalmente en tratar de promover el desarrollo, sobrevivencia y funcionalidad de las neuronas dopaminérgicas (Alexi et. al 2000) tanto en personas que presentan la enfermedad como en los modelos experimentales.

### 7.1 FACTORES TRÓFICOS

Muchos de los factores neurotróficos se encuentran localizados en el sistema nigroestriatal, apoyando la diferenciación y la sobrevivencia de las neuronas mesencefálicas dopaminérgicas (Beck, 1994; Hefli, 1997). Entre los factores tróficos que se han identificado se encuentran los mitogénicos bFGF, EGF,  $\alpha$ -TGF y IGF-I, IGF-II y las neurotrofinas BDNF y NT4/5 (Alexi et al 2000). Además se han identificado miembros de la superfamilia  $\beta$ -TGF, en los cuales se incluyen a los factores TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3 La subfamilia incluyen la GDNF (Poulsen et al. 1994), NTN y PSP (Horger et al 1998) Varios de estos factores tróficos, han demostrado que revierten los déficits dopaminérgicos, en los diferentes modelos animales de la enfermedad de Parkinson. Se ha reportado que los factores tróficos más potentes son los miembros de la subfamilia  $\beta$ -TGF, es decir los factores GDNF y NTN, mientras que el de más baja potencia es el PSP (Alexi et. al. 2000)

contactos establecidos con la misma estructura, así como también degeneración neuronal, estableciéndose una correlación entre el desarrollo natural de la enfermedad y lo que se observa cuando se inducen estas alteraciones dentro del núcleo caudado (Avila-Costa et al., 1998). Más aún, Avila-Costa (1996) reportó que después de la lesión unilateral, no sólo se observan las alteraciones ipsilaterales anteriormente descritas es decir, después de 40 días el caudado contralateral a la lesión también presenta alteraciones ultraestructurales importantes, llegando a la conclusión de que dicho caudado no puede tomarse como control

## 7. TRATAMIENTOS EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

Las diferentes terapias que se han empleado para el potencial tratamiento de la enfermedad de Parkinson, se han enfocado principalmente en tratar de promover el desarrollo, sobrevivencia y funcionalidad de las neuronas dopaminérgicas (Alexi et al 2000) tanto en personas que presentan la enfermedad como en los modelos experimentales.

### 7.1 FACTORES TRÓFICOS

Muchos de los factores neurotróficos se encuentran localizados en el sistema nigroestriatal, apoyando la diferenciación y la sobrevivencia de las neuronas mesencefálicas dopaminérgicas (Beck, 1994; Hefti, 1997). Entre los factores tróficos que se han identificado se encuentran los mitogénicos bFGF, EGF,  $\alpha$ -TGF y IGF-I, IGF-II y las neurotrofinas BDNF y NT4/5 (Alexi et al 2000). Además se han identificado miembros de la superfamilia  $\beta$ -TGF, en los cuales se incluyen a los factores TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3 La subfamilia incluyen la GDNF (Poulsen et al. 1994), NTN y PSP (Horger et al 1998) Varios de estos factores tróficos, han demostrado que revierten los déficits dopaminérgicos, en los diferentes modelos animales de la enfermedad de Parkinson. Se ha reportado que los factores tróficos más potentes son los miembros de la subfamilia  $\beta$ -TGF, es decir los factores GDNF y NTN, mientras que el de más baja potencia es el PSP (Alexi et al. 2000)

El TGF- $\beta$ 3 tiene fuertes efectos tróficos, cuando se utiliza en cultivo de neuronas (Poulsen et. al. 1994), sin embargo este factor, no presenta ningún efecto cuando se emplea en ratas lesionadas con 6-OHDA. Por otro lado, el factor GDNF, que pertenece a la superfamilia del  $\beta$ -TGF, ejerce efectos protectores en neuronas dopaminérgicas en modelos de axotomía, 6-OHDA, MPTP y metanfetamina, tanto en roedores así como en primates (Alexi et. al. 2000). Los factores neurotróficos son de gran importancia, ya que inducen el crecimiento y funcionalidad de las células dopaminérgicas (Alexi et. al. 2000)

## 7.2 TRANSPLANTES

Por mucho tiempo el tejido fetal ha sido empleado para el tratamiento de algunos desórdenes en humanos, como el trasplante de tejido fetal pancreático para el tratamiento de la diabetes mellitus, el trasplante de tejido fetal del timo para el tratamiento de la deficiencia linfocítica inmunológica (Alexi et. al. 2000).

Los diversos tejidos usados en la enfermedad de Parkinson, se enfocan principalmente en promover la síntesis de dopamina, como las células de la SN del mesencéfalo ventral, de la médula adrenal, líneas celulares dopaminérgicas, astrocitos y fibroblastos, factores neurotróficos, co-transplantes y más recientemente células epiteliales (Martínez-Serrano y Björklund, 1997).

El trasplante de mesencéfalo ventral colocado dentro del estriado, en animales lesionados con 6-OHDA da como resultado, que las células transplantadas sobrevivan cerca de 2 años, además se forman conexiones sinápticas funcionales entre el tejido transplantado y el tejido huésped, mejorando los niveles de dopamina y reduciendo la conducta de giro cuando se administra metanfetamina y apomorfina (Nishino et al. 1990, Alexi et al. 2000). Se ha reportado que el trasplante de médula adrenal fetal, colocado en el ventrículo lateral da como resultado, una mayor conservación del volumen del tejido transplantado, además se observa un gran número de células sobrevivientes, los somas de las células presentan una mayor área, en comparación con los trasplantes colocados en el parénquima del núcleo caudado, en donde la conservación del tejido transplantado y la sobrevivencia de las células es muy pobre. Sin embargo cabe señalar, que cuando se administró apomorfina para inducir la conducta de giro, ésta disminuyó de igual manera

en ambos casos, es decir, no tiene efecto funcional, independientemente de su localización y el volumen transplantado (Anaya, 1997; Anaya-Martínez et. al. en prensa)

### 7.3 ANTI-EXCITOTÓXICA

Un gran número de estudios han reportado en modelos con MPTP y 6-OHDA, que los antagonistas excitotóxicos, principalmente aquellos que están dirigidos a los receptores glutamatérgicos de tipo NMDA y glicina (como el MK-801, CPP, y el anticonvulsivante riluzole), interrumpen el exceso en la neurotransmisión que ejerce el glutamato sobre las aferencias y eferencias (Difazio et. al. 1992; Christofferson y Meltzer, 1995, Kosinski et. al. 1998; Blandini y Greenamyre, 1998; Rodríguez et. al. 1998) induciéndose alguna mejoría en la akinesia y la rigidez (Alexi et al. 2000). Además se ha reportado que la toxicidad inducida por el MPTP sobre las neuronas dopaminérgicas, puede ser reducida si se administran antagonistas excitotóxicos (Turski et. al. 1991; Connop et al. 1995; Kanthasamy et. al. 1997; Miranda et. al. 1999).

El tratamiento sistémico con MK-801, ha dado como resultado, que se restituya la actividad estriatal de la enzima tiroxina hidroxilasa, la cual se encontraba inhibida por la infusión directa intranigral de ácido Malónico (toxina mitocondrial) (Connop et. al. 1996, Chan et al. 1997). Se ha reportado, que los pacientes con enfermedad de Parkinson, se presentan algunas mejorías sintomáticas a partir de la subtalomotomía, es decir, se remueve el exceso excitatorio. Removiendo este núcleo, se ayuda a restablecer la neurotransmisión normal dentro de la circuitería de los ganglios basales (Bergman et al. 1990, Chesselet y Delfs, 1996; Blandini y Greenamyre 1998, Rodríguez et al. 1998).

### 7.4 ANTIOXIDANTES

La neurodegeneración que ocurre en la enfermedad de Parkinson, puede involucrar "estrés oxidativo", inducido por la producción de radicales libres, generados durante el metabolismo de la dopamina (Lange, K. 1994; Yamamoto, 1998; Shoulson, 1998, Cassarino y Bennet, 1999, Iida et. al. 1999; Molina-Arjona et. al. 1999) La producción de radicales libres puede seguir dos caminos: la dopamina es metabolizada enzimáticamente por la MAO-B o bien por autooxidación de la misma dopamina, esto genera especies

reactivas al oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), como el anión superóxido ( $O_2^-$ ), el peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Cassarino y Bennet, 1999), los cuales reaccionan con los metales (como el  $Fe^{2+}$ ) produciendo radicales hidroxilos ( $OH^\cdot$ ) induciendo citotoxicidad a la célula (Riederer et. al. 1989; Olanow, 1993; Lange, 1994, Burke, 1999; Kienzl et. al. 1999).

Se ha reportado que las enzimas encargadas de neutralizar la generación de los radicales libres (antioxidantes), como el glutatión, glutatión-peroxidasa, superóxido-dismutasa (SOD) y la catalasa disminuyen, asimismo se incrementa de manera anormal la concentración de  $Fe^{2+}$ , en pacientes que presentan la enfermedad de Parkinson (Lange, K 1994; Yamamoto, 1998; Shoulson, 1998; Jiménez-Jiménez et. al. 1999)

Los indicadores del daño celular provocados por radicales libres, son la peroxidación de lípidos, bajos niveles de concentración de las enzimas antioxidantes, oxidación del ADN y finalmente la muerte neuronal (Dexter et. al. 1989; Lange, K. 1994, Alam et. al. 1997). Se ha reportado que la probable pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra, se debe a que estas células son particularmente vulnerables al ROS y a la acumulación del pigmento oscuro denominado neuromelanina (péptido que contiene altas concentraciones de metales como el  $Fe^{2+}$  y zinc) el cual incrementa su concentración con la edad (González-Fraguela et. al. 1998; Weiner, 1999; Soto-Otero et. al. 2000; Zecca et. al. 2000). Reportes recientes indican que existe una relación entre el MT-III (factor inhibidor del crecimiento celular) y la enfermedad de Parkinson, es decir, cuando disminuyen los niveles de ARNm del MT-III y se incrementan los ROS inducen la muerte celular, por lo tanto el MT-III probablemente apoya la sobrevivencia de las células, eliminando las ROS ejerciendo la función de neuroprotector (Sogawa et al. 2000)

El tratamiento con fármacos antioxidantes, en animales lesionados con MPTP ó con  $MPP^+$ , atenúa la degeneración de las células de la SN e incrementa los niveles de dopamina dentro del estriado. En animales lesionados con 6-OHDA, los antioxidantes como el quelador de hierro "desferrioxamina" y la vitamina E, provocan ligeras mejorías en los déficits motores (Kienzl et. al. 1999). En ratones transgénicos que presentan sobreexpresión de la SOD, se observa cierta resistencia a la toxicidad producida por el MPTP y 6-OHDA (Asanuma y Cadet, 1998, Sziraki et al. 1998). Estudios bioquímicos han

reportado, que las concentraciones séricas de factores prooxidantes (como el hierro) y de antioxidantes (como la vitamina E, A y carotenos), no se alteran tanto en sujetos normales como en sujetos que presentan la enfermedad de Parkinson (Molina-Arjona et. al. 1999)

## 7.5 FARMACOLÓGICA

El tratamiento de la enfermedad de Parkinson sigue siendo un problema de difícil solución. Desde que se entendió que la enfermedad se debía a una deficiencia en el suministro de dopamina, se han establecido diversas estrategias farmacológicas con el objetivo de minimizar los síntomas de esta enfermedad y mejorar la función dopaminérgica

### 7.5.1 L-DOPA

La L-DOPA se forma a partir del aminoácido L-tiroxina, como uno de los pasos intermedios en la síntesis de catecolaminas, la dopamina se sintetiza por la descarboxilación de este aminoácido.

A partir de 1967 se inicia la introducción de la L-DOPA como farmacoterapia Cotzias (1967) reporta que la administración oral de L-DOPA provoca efectos benéficos sostenidos y dramáticos en los pacientes con la enfermedad de Parkinson Posteriormente se establece que produce efectos anti-rigidez. Investigaciones más recientes reportan que este fármaco tiene efectos transitorios cuando es administrada a bajas dosis, sin embargo aparecen algunas contradicciones de los efectos benéficos de la L-DOPA cuando se administra a largo plazo (Tolosa et. al. 1998).

En administraciones a corto plazo, la L-DOPA revierte algunos de los déficits motores de dicha enfermedad, a través de su conversión a dopamina. Sin embargo, cuando se administra a largo plazo o se incrementa la dosis, este fármaco pierde eficacia y frecuentemente aparecen serios efectos colaterales como las oscilaciones motoras on-off y discinesias, sin que los pacientes presenten algún tipo de mejoría. Recientemente se ha reportado que la administración a largo plazo de L-DOPA, puede acelerar la degeneración de las neuronas dopaminérgicas, debido probablemente a que este fármaco incrementa la producción de radicales libres, provocando en las células estrés oxidativo

e induciendo su muerte (Wolters et. al. 1995; Jenner et. al. 1995).

### 7.5.2 Anticolinérgicos

Los agentes anticolinérgicos también conocidos como antimuscarínicos, son alcaloides que se extraen de la planta belladona (Atropa belladonna), funcionalmente son antagonistas competitivos de la acción de la Acetilcolina (Ach) y de otros agentes agonistas muscarínicos. Se ha reportado que los agentes anticolinérgicos tienen su acción antagónica sobre el sistema neuromuscular, estableciéndose que dichos agentes reducirían los efectos excitatorios de las neuronas colinérgicas estriatales, a través de la inhibición de la captación de dopamina en los sinaptosomas estriatales, o bien pueden actuar directamente sobre las neuronas estriatales (Duvoisin 1967; Beker y Joynt, 1990). Reportes recientes indican que los agentes anticolinérgicos tienen eficacia en la rigidez y el temblor (Varon y Jacobs, 1991).

### 7.5.3 Amantadina

La amantadina es una sal ácida hidrosoluble tricíclica que tiene la capacidad de penetrar todas las membranas celulares. En modelos animales se ha demostrado que actúa sobre la liberación de dopamina, en las terminales dopaminérgicas que no presentan ningún tipo de degeneración dentro del cuerpo estriado (Schwab et. al. 1969). Asimismo se ha reportado que este fármaco retarda la recaptura de dopamina (Gianutsos et. al. 1985; Allen, 1983).

### 7.5.4 Selegilina (Deprenyl)

La selegilina es un inhibidor de la enzima mono-amino-oxidasa tipo B (MAO-B). Se ha sugerido que este fármaco inhibe al receptor presináptico de la dopamina, de esta forma se incrementa la síntesis de dopamina aumentando la transmisión dopaminérgica. Este fármaco ha sido empleado en combinación con la L-DOPA, ya que la selegilina aumenta la acción de la L-DOPA a través de la conversión a dopamina inhibiendo la enzima MAO-B. Además se ha observado que la selegilina prolonga y potencia la eficacia de la L-DOPA cuando se administra en pacientes con enfermedad de Parkinson (Lees,

1991, Yahr et al. 1983).

### 7.5.5 Bromocriptina

La bromocriptina es un derivado del ácido lisérgico, es decir es un alcaloide, que funcionalmente es agonista de los receptores dopaminérgicos  $D_2$  y antagonista de los receptores  $D_1$ . La bromocriptina se introdujo en 1974, como el primer agonista dopaminérgico útil clínicamente, ya que tiene acción farmacológica sobre los síntomas iniciales de la enfermedad de Parkinson (Jackson et al. 1988, Weiner, 1999, Ramaker et al. 2000). Este fármaco tiene una vida media de alrededor de 6-8 hrs, y su máxima concentración en el plasma es de 70-100 minutos ( De Yébenes et. al. 1997; Ogawa, N 1998; Henry et. al. 1999). Además este fármaco parece que actúa sobre los receptores  $D_2$  presinápticamente (a nivel del autorreceptor) suprimiendo el recambio de dopamina (Lange, K 1994; Kulisevsky, 1997).

Se ha reportado que la bromocriptina, tiene efectos bifásicos sobre la actividad locomotora en modelos de ratas y ratones cuando es administrada directamente sobre el núcleo acumbens (Jackson et. al. 1988) Bajas concentraciones producen depresión, mientras que altas dosis, producen una mayor actividad locomotora que perdura varias horas, seguida de depresión motora. Esta depresión probablemente se deba a la estimulación de los autorreceptores dopaminérgicos, reduciendo la concentración sináptica de dopamina (Király y Van Ree, 1984; Jackson et al. 1988) En modelos animales de primates no humanos lesionados con MPTP, el tratamiento con bromocriptina no induce la aparición de discinecias (Henry et. al. 1999)

Funcionalmente los receptores  $D_2$  parecen mediar la depresión inducida por la bromocriptina, además su estimulación probablemente modula la expresión de el ARNm de la PPE-A (Preproencefalina-A) y reduce la actividad excitatoria de las aferencias corticales (Korczyn et. al. 1998; Henry et. al. 1999). Además modula la frecuencia de disparo de las células nigro-estriatales y de las células del tegmento-acumbens (Jackson et. al. 1988)



Estudios bioquímicos han reportado que la bromocriptina inhibe el incremento y acumulación de metabolitos dopaminérgicos como el DOPAC (Jackson et. al.1988, Corrodi et. al. 1973; Bannon et. al. 1986). Además dosis bajas de este fármaco incrementan los niveles de expresión ARNm para la PPE-A, mientras que dosis altas no alteran la expresión del ARNm para la PPE-B (Henry et. al. 1999). DiChiara y cols. (1977) ha reportado en ratones, que el decremento en los niveles de DOPAC ocurren cuando se presentan los efectos depresivos locomotores.

Reportes clínicos han mencionado que la bromocriptina induce algunos efectos colaterales transitorios como náusea y vómito (Agid et. al 1999; Goetz et. al. 1999; Ramaker et. al 2000). En algunos casos, cuando se administra repetidamente, induce efectos como confusión, alucinaciones visuales y paranoia (Henry et. al. 1999; Korczyn et. al 1998).

La administración de bromocriptina atenúa las complicaciones motoras inducidas por la administración a largo plazo de la L-dopa (Ramaker et. al. 2000). Cuando se administra como monoterapia en etapas iniciales de la enfermedad de Parkinson, induce efectos más determinantes y duraderos, reduciendo la frecuencia de aparición de las discinecias (Ogawa, N 1998; Korczyn et al 1999, Agid et al. 1999; Henry et. al 1999).

Se ha reportado que la bromocriptina posee propiedades antioxidantes (Yoshikawa et. al. 1994; Jenner, 1995), demostrándose que funciona como "barredor" de radicales libres (Muralikrishnan y Mohanakumar, 1998), ya que cuando se administra en homogenados de cerebro de rata, elimina a los radicales  $O_2$ ,  $ONOO^-$  y  $H_2O_2$ , inhibiendo significativamente la peroxidación de lípidos, además se le atribuyen fuertes efectos de "neuroprotector" y antioxidante (Lange, K 1994, Yoshikawa et al. 1994, Kondo et al. 1994; Tanaka et. al. 1995, Ogawa, N. 1998, Yamamoto, 1998, Iida et al. 1999). En preparaciones *in vitro* e *in vivo* de la SNc de ratones tratados con MPTP, la bromocriptina bloquea la formación de radicales  $OH^\cdot$  incrementando la actividad de las enzimas antioxidantes (Muralikrishnan y Mohanakumar, 1998). Además se ha reportado que la bromocriptina, inhibe la frecuencia de recambio en la recaptura de dopamina (Ogawa et. al. 1994) a través de la activación de los autorreceptores (Kondo et al 1994). Por lo tanto se ha establecido que la bromocriptina puede tener la posibilidad de mejorar algunos de

los síntomas en la enfermedad de Parkinson (Yoshikawa et. al 1994)

## 8. JUSTIFICACIÓN

Ahora bien, de acuerdo a lo expuesto anteriormente, nos interesa describir si la bromocriptina (la cual posee características de antioxidantes y que es un agente antiparkinsonico de uso común en el mercado) es capaz de prevenir las alteraciones ultraestructurales causadas por la denervación de dopamina en el núcleo caudado.

## 9. OBJETIVO

Analizar si el tratamiento con Bromocriptina atenúa las alteraciones ultraestructurales del neuropilo del núcleo caudado que se observan después de la lesión unilateral con 6-OHDA.

## 10. MÉTODO

Los experimentos se llevaron a cabo en 18 ratas macho de la cepa Wistar, las cuales pesaban entre 180-200 g al inicio del experimento, y que fueron mantenidas en un ciclo luz-obscuridad 12 12 con libre acceso al agua y al alimento

Las ratas fueron lesionadas quirúrgicamente de la siguiente manera: Los animales fueron anestesiados con una dosis de 35 mg/Kg de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal (i.p.). Una vez anestesiadas, fueron fijadas en un aparato estereotáxico. Las coordenadas estereotáxicas empleadas fueron las siguientes a partir de bregma: AP=-4mm, L=1.4mm, V=-7.7mm a partir de la duramadre (de acuerdo a Paxinos y Watson, 1986). El primer grupo consistió en 12 ratas, las cuales fueron lesionadas unilateralmente en el haz medial del cerebro anterior (lado izquierdo) con 4  $\mu$ l de solución salina que contenía 8 $\mu$ g de 6-OHDA y 0.2 mg de ácido ascórbico. El segundo grupo consistió en 6 ratas que fueron lesionadas en el mismo sitio con 4  $\mu$ l de vehículo -solución salina y ácido ascórbico- (grupo control). Ambas soluciones fueron inyectadas con una jeringa

los síntomas en la enfermedad de Parkinson (Yoshikawa et al 1994)

## 8. JUSTIFICACIÓN

Ahora bien, de acuerdo a lo expuesto anteriormente, nos interesa describir si la bromocriptina (la cual posee características de antioxidantes y que es un agente antiparkinsonico de uso común en el mercado) es capaz de prevenir las alteraciones ultraestructurales causadas por la denervación de dopamina en el núcleo caudado.

## 9. OBJETIVO

Analizar si el tratamiento con Bromocriptina atenúa las alteraciones ultraestructurales del neuropilo del núcleo caudado que se observan después de la lesión unilateral con 6-OHDA.

## 10. MÉTODO

Los experimentos se llevaron a cabo en 18 ratas macho de la cepa Wistar, las cuales pesaban entre 180-200 g al inicio del experimento, y que fueron mantenidas en un ciclo luz-obscuridad 12.12 con libre acceso al agua y al alimento.

Las ratas fueron lesionadas quirúrgicamente de la siguiente manera: Los animales fueron anestesiados con una dosis de 35 mg/Kg de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal (i.p.). Una vez anestesiadas, fueron fijadas en un aparato estereotáxico. Las coordenadas estereotáxicas empleadas fueron las siguientes a partir de bregma AP = -4mm; L = 1.4mm, V = -7.7mm a partir de la duramadre (de acuerdo a Paxinos y Watson, 1986). El primer grupo consistió en 12 ratas, las cuales fueron lesionadas unilateralmente en el haz medial del cerebro anterior (lado izquierdo) con 4 µl de solución salina que contenía 8 µg de 6-OHDA y 0.2 mg de ácido ascórbico. El segundo grupo consistió en 6 ratas que fueron lesionadas en el mismo sitio con 4 µl de vehículo -solución salina y ácido ascórbico- (grupo control). Ambas soluciones fueron inyectadas con una jeringa

los síntomas en la enfermedad de Parkinson (Yoshikawa et al 1994)

## 8. JUSTIFICACIÓN

Ahora bien, de acuerdo a lo expuesto anteriormente, nos interesa describir si la bromocriptina (la cual posee características de antioxidantes y que es un agente antiparkinsonico de uso común en el mercado) es capaz de prevenir las alteraciones ultraestructurales causadas por la denervación de dopamina en el núcleo caudado.

## 9. OBJETIVO

Analizar si el tratamiento con Bromocriptina atenúa las alteraciones ultraestructurales del neuropilo del núcleo caudado que se observan después de la lesión unilateral con 6-OHDA

## 10. MÉTODO

Los experimentos se llevaron a cabo en 18 ratas macho de la cepa Wistar, las cuales pesaban entre 180-200 g al inicio del experimento, y que fueron mantenidas en un ciclo luz-obscuridad 12:12 con libre acceso al agua y al alimento

Las ratas fueron lesionadas quirúrgicamente de la siguiente manera. Los animales fueron anestesiados con una dosis de 35 mg/Kg de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal (i.p.). Una vez anestesiadas, fueron fijadas en un aparato estereotáxico. Las coordenadas estereotáxicas empleadas fueron las siguientes a partir de bregma: AP= -4mm; L=1.4mm; V= -7.7mm a partir de la duramadre (de acuerdo a Paxinos y Watson, 1986). El primer grupo consistió en 12 ratas, las cuales fueron lesionadas unilateralmente en el haz medial del cerebro anterior (lado izquierdo) con 4 µl de solución salina que contenía 8µg de 6-OHDA y 0.2 mg de ácido ascórbico. El segundo grupo consistió en 6 ratas que fueron lesionadas en el mismo sitio con 4 µl de vehículo -solución salina y ácido ascórbico- (grupo control). Ambas soluciones fueron inyectadas con una jeringa

Hamilton acoplada a una micropipeta de vidrio con un diámetro de entre 50 y 100µm

Con el propósito de evaluar la conducta de giro de los animales de ambos grupos, se les administro apomorfina a una dosis de 0.25 mg/Kg i.p. a los dos días después de la lesión. Se utilizaron sólo aquellos animales lesionados con 6-OHDA que mostraron más de 200 giros en un período de 30 minutos así como las ratas inyectadas con vehículo (que no muestren conducta de giro). Dos días después de esta evaluación, seis ratas lesionadas fueron tratadas con 0.3 mg/Kg de bromocriptina por vía oral durante 30 días, seis ratas lesionadas no recibieron bromocriptina y las ratas del grupo control fueron mantenidas durante el mismo tiempo.

Los animales de los tres grupos fueron entonces sacrificados bajo anestesia profunda con Pentobarbital sódico dosis letal i.p. a los 30 días de tratamiento, se realizó la perfusión intracardiaca por vía aórtica inicialmente con una solución salina isotónica para posteriormente aplicar el fijador, que contenía glutaraldehído al 0.2% y paraformaldehído al 2% en buffer de fosfatos (PBS) al 0.1M. Una vez perfundidos, se extrajeron los cerebros y se colocaron en fijativo durante una hora. Posteriormente se tomaron fragmentos del cuadrante dorsomedial de la cabeza del núcleo caudado ipsi y contralateral a la lesión. Asimismo se realizaron cortes histológicos del mesencéfalo ventral (esta región contenía la SNc) de los animales de los tres grupos para establecer el grado de depleción inducida por la lesión, se realizó una prueba de Inmunocitoquímica para tiroxina hidroxilasa (apéndice 1), para corroborar que la sustancia nigra se encontraba con un 95 % de pérdida de neuronas dopaminérgicas.

Después de lavar los fragmentos en PBS, fueron colocados durante una hora en tetraóxido de Osmio al 1% preparado con PBS para la postfijación; posteriormente los fragmentos fueron lavados con PBS en tres cambios de 10 minutos cada uno. El siguiente paso consistió en la deshidratación del tejido con alcoholes en concentraciones crecientes (del 50% al 96%) durante lapsos de 10 minutos cada uno. Finalmente, el tejido fue puesto en alcohol al 100% por tres ocasiones de 10 minutos cada una. Posteriormente, el tejido fue colocado en tolueno durante dos períodos de 10 minutos cada uno. Los fragmentos fueron infiltrados en una mezcla de resina 1:1 araldita-tolueno a 60°C. Se mantuvieron por 12 horas en una mezcla 3:1 de araldita-tolueno a temperatura ambiente y los fragmentos

ya infiltrados se incluyeron en araldita pura a 60°C durante 24 horas

Una vez que se polimerizó la resina, se procedió a realizar los cortes finos de 900Å en un ultramicrotomo Reichert-Jung utilizando cuchillas de diamante. Se montaron los cortes en rejillas de cobre y se contrastaron con acetato de uranilo al 5% durante 20 minutos y con citrato de plomo al 0.4% por 5 minutos. Los cortes fueron observados en un microscopio electrónico Jeol Jem 100 CX II y se llevó a cabo el análisis ultraestructural, realizando las mediciones directamente de la pantalla.

El análisis ultraestructural consistió en la medición de 50 botones presinápticos de ambos caudados considerándose los siguientes parámetros:

- Diámetro del eje mayor y del eje menor
- Estructura postsináptica (espina o dendrita).
- Número de sinapsis establecidas con la misma estructura (simple o doble).

Las pruebas estadísticas que se utilizaron para el análisis de resultados fueron. Para el diámetro de los botones sinápticos se utilizó la prueba t, para muestras pareadas (cuando se llevó a cabo la comparación intrasujetos) y no pareadas (para la comparación intersujetos). Para las características del botón sináptico (tipo de contacto sináptico, estructura postsináptica y número de contactos sinápticos), se utilizó la prueba de Wilcoxon.

## 11. RESULTADOS

Como ya se describió anteriormente, la lesión con 6-OHDA produce alteraciones ultraestructurales significativas en el neuropilo del núcleo caudado cuando los datos son comparados con los animales inyectados con solución salina (grupo control) Ahora bien, en el presente experimento encontramos que el tratamiento con bromocriptina después de la lesión, atenúa las alteraciones provocadas por dicha lesión

ya infiltrados se incluyeron en araldita pura a 60°C durante 24 horas

Una vez que se polimerizó la resina, se procedió a realizar los cortes finos de 900Å en un ultramicrotomo Reichert-Jung utilizando cuchillas de diamante. Se montaron los cortes en rejillas de cobre y se contrastaron con acetato de uranilo al 5% durante 20 minutos y con citrato de plomo al 0.4% por 5 minutos. Los cortes fueron observados en un microscopio electrónico Jeol Jem 100 CX II y se llevó a cabo el análisis ultraestructural, realizando las mediciones directamente de la pantalla.

El análisis ultraestructural consistió en la medición de 50 botones presinápticos de ambos caudados considerándose los siguientes parámetros:

- Diámetro del eje mayor y del eje menor
- Estructura postsináptica (espinas o dendritas)
- Número de sinapsis establecidas con la misma estructura (simple o doble).

Las pruebas estadísticas que se utilizaron para el análisis de resultados fueron. Para el diámetro de los botones sinápticos se utilizó la prueba t, para muestras pareadas (cuando se llevó a cabo la comparación intrasujetos) y no pareadas (para la comparación intersujetos). Para las características del botón sináptico (tipo de contacto sináptico, estructura postsináptica y número de contactos sinápticos), se utilizó la prueba de Wilcoxon.

## 11. RESULTADOS

Como ya se describió anteriormente, la lesión con 6-OHDA produce alteraciones ultraestructurales significativas en el neuropilo del núcleo caudado cuando los datos son comparados con los animales inyectados con solución salina (grupo control). Ahora bien, en el presente experimento encontramos que el tratamiento con bromocriptina después de la lesión, atenúa las alteraciones provocadas por dicha lesión.

## APÉNDICE DE FOTOGRAFÍAS

**FIGURA 5.** Microfotografía donde se muestra el diámetro del botón presináptico en donde.

A Botón sináptico de una rata control estableciendo contacto con una espina dendrítica.

B Botón sináptico del lado lesionado (ipsilateral) estableciendo contacto con una espina dendrítica.

C Botón sináptico de una rata tratada con bromocriptina estableciendo contacto con una dendrita.

**FIGURA 6.** Microfotografía donde se muestra el blanco postsináptico donde

A Botón sináptico de una rata control estableciendo contacto con una espina dendrítica.

B Botón sináptico del lado lesionado (ipsilateral) estableciendo contacto con una espina dendrítica (→).

C Botón sináptico de una rata tratada con bromocriptina estableciendo contacto con una espina dendrítica.

**FIGURA 7.** Microfotografía en la cual se muestra el número de contactos sinápticos establecidos con la misma estructura en donde:

A Botón sináptico de una rata control estableciendo contacto con una espina dendrítica.

B Botón sináptico estableciendo contacto doble (▲) con una espina dendrítica del lado ipsilateral a la lesión.

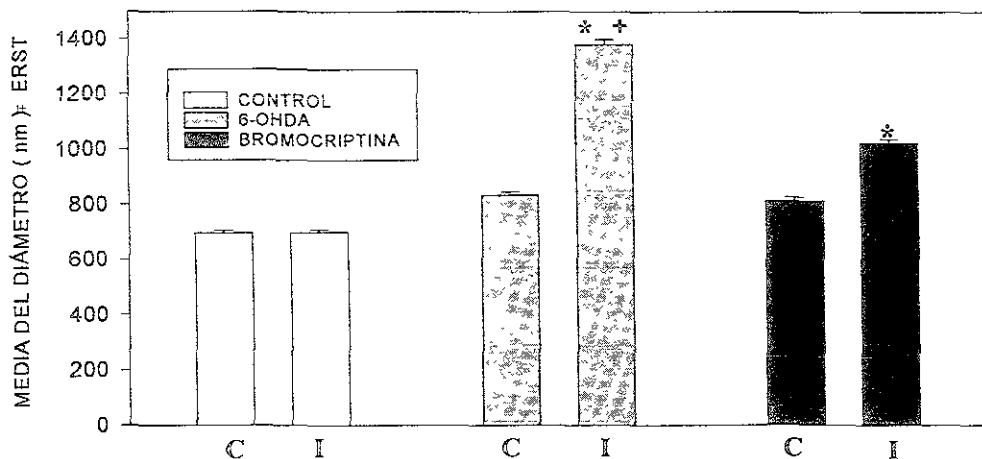
C Botón sináptico de una rata tratada con bromocriptina en donde establece contacto doble (▲) con una dendrita.

**Abreviaturas:** B= Botón sináptico, E= espina dendrítica, D= Dendrita, V= Vacuolas, b=botón sináptico, e= espina dendrítica

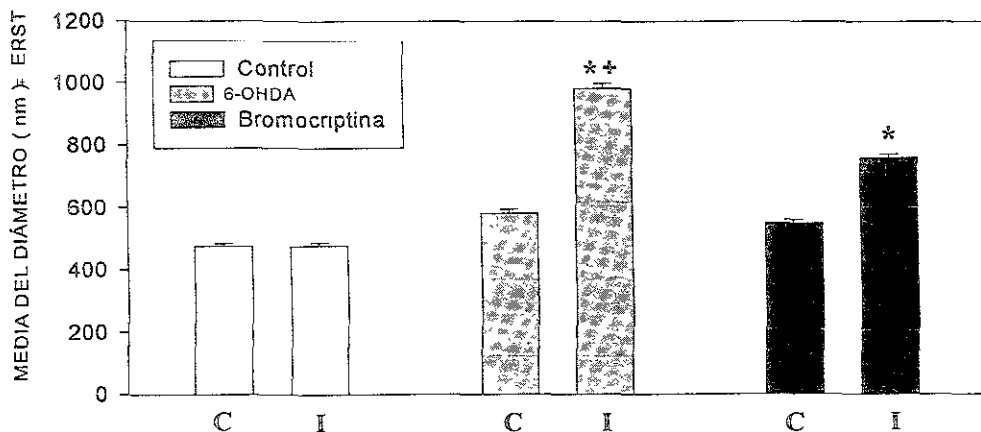


# DIÁMETRO DEL BOTÓN PRESINÁPTICO

## EJE MAYOR



## EJE MENOR



**GRAFICA 1** En esta gráfica se muestra la media del tamaño de los botones sinápticos, tanto del eje mayor como del eje menor de los caudados ipsi (I) y contralateral (C) a la lesión de los tres grupos. En donde \* =  $P < 0.001$  entre los caudados ipsilaterales a la lesión de los grupos 6-OHDA y 6-OHDA+bromocriptina vs los caudados del grupo control, y † =  $P < 0.001$  entre el caudado ipsilateral del grupo 6-OHDA vs el caudado ipsilateral del grupo tratado con bromocriptina.



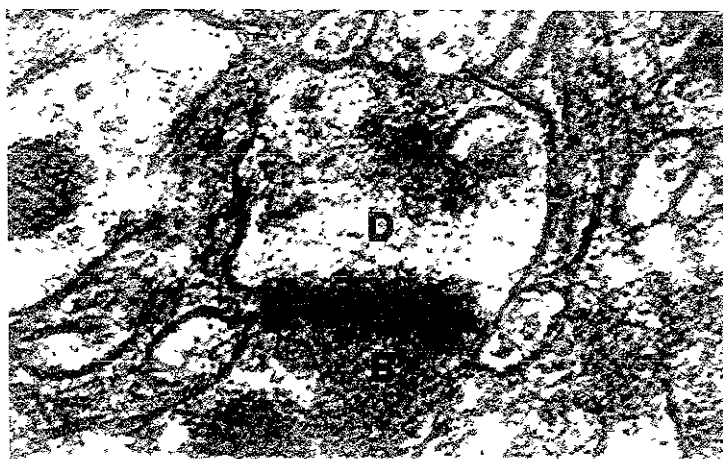
A

— .33  $\mu\text{m}$



B

— .62  $\mu\text{m}$



C

— .25  $\mu\text{m}$

FIGURA 5

### 11.1 DIÁMETRO DEL BOTÓN SINÁPTICO

Como se puede observar en la gráfica 1 la lesión con 6-OHDA (lesión) produjo aumento en el tamaño de los botones sinápticos en comparación con el grupo control, sin embargo, los animales lesionados con 6-OHDA y tratados durante 30 días con bromocriptina (lesión + bromocriptina), presentaron una disminución estadísticamente significativa en el tamaño de los botones presinápticos con respecto a los animales lesionados, no obstante, dicha disminución aún fue estadísticamente diferente con respecto al grupo control (figura 5).

### 11.2 BLANCO POSTSINÁPTICO

Con respecto a la estructura que recibía el contacto sináptico (dendrita o espina), encontramos que los botones presinápticos del grupo lesionado con 6-OHDA presentaron una disminución estadísticamente significativa en los contactos sinápticos con las espinas dendríticas con respecto al grupo control, presentando los restantes contactos sinápticos con dendritas. En contraste, el grupo lesionado y tratado con bromocriptina, presentó valores muy similares al grupo control, es decir, mayor número de contactos con espinas que con dendritas (figura 6), siendo estadísticamente significativos con respecto al grupo lesionado (ver gráfica 2).

### 11.3 NÚMERO DE CONTACTOS SINÁPTICOS

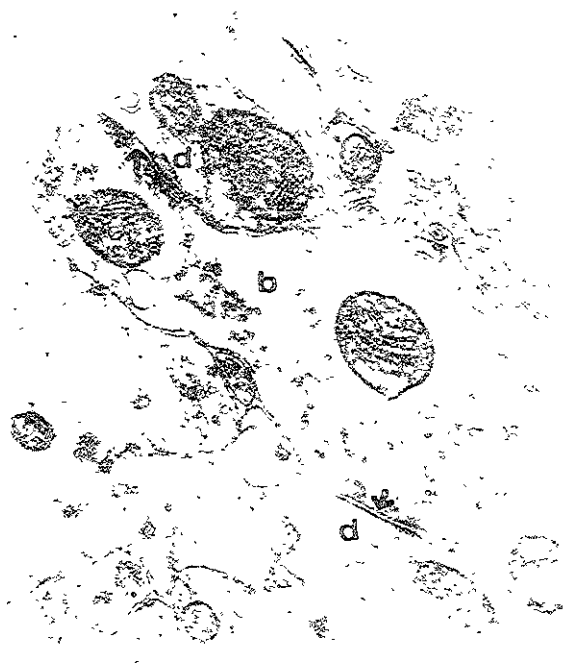
El último parámetro sinaptológico evaluado en nuestro estudio fue el número de sinapsis que morfológicamente podían ser distinguidas en un sólo botón sináptico

En la gráfica 3 se muestra el número de contactos sinápticos que establecía el botón presináptico con la misma estructura postsináptica (simples o dobles). Como se puede observar, el grupo control, presentó mayor número de contactos simples, esto es, el botón presináptico establecía un solo contacto con la estructura postsináptica. Sin embargo, tanto el grupo lesionado con 6-OHDA como el lesionado y tratado con bromocriptina presentaron aumento significativo en el número de contactos dobles, es decir, el botón presináptico establecía dos contactos con la misma estructura, siendo las diferencias estadísticamente significativas (figura 7).



A

— .5  $\mu\text{m}$



B

— 1  $\mu\text{m}$



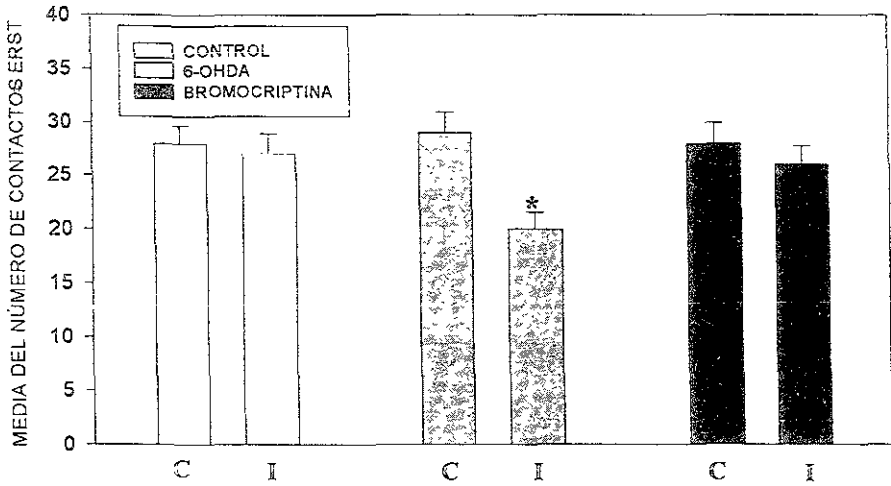
C

— .24  $\mu\text{m}$

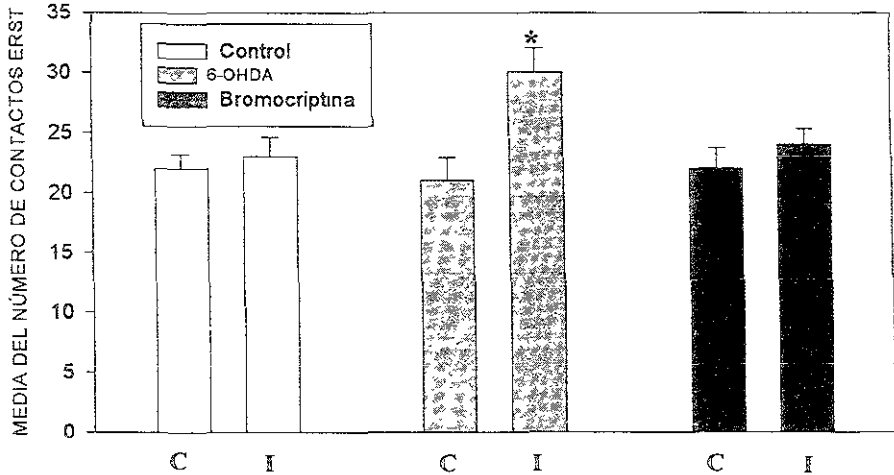
FIGURA 6

# ESTRUCTURA POSTSINÁPTICA

## ESPINA DENDRÍTICA



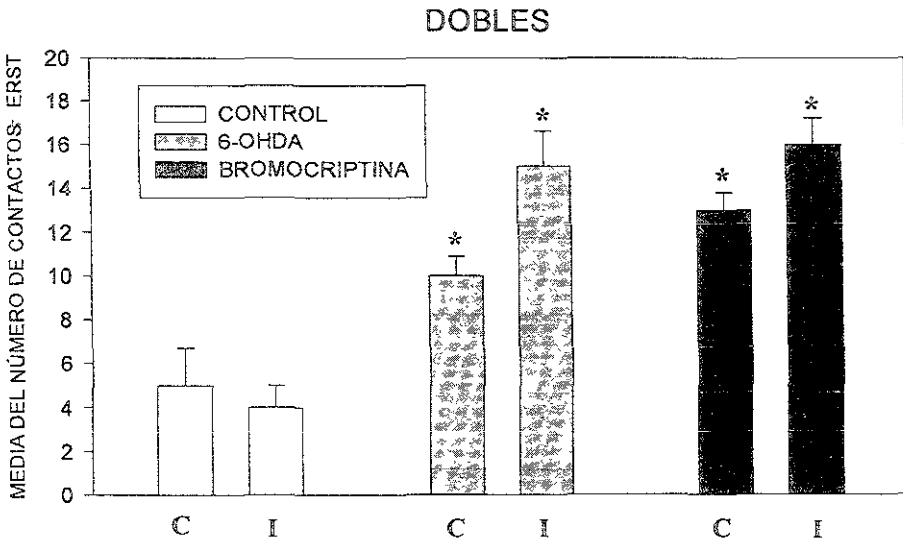
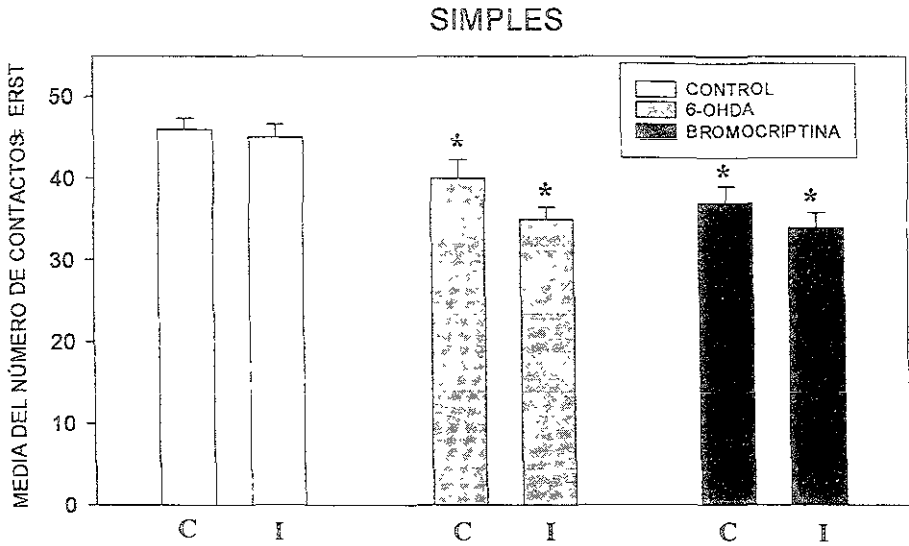
## DENDRITA



**GRAFICA 2** En esta gráfica se muestra la media del número total de botones sinápticos que establecieron contacto con espina dendrítica o con dendrita de los caudados ipsi (I) y contralateral (C) a la lesión de los tres grupos.

En donde \* =  $P < 0.001$  entre el caudado ipsilateral a la lesión del grupo 6-OHDA vs los caudados del grupo control y el grupo tratado con bromocriptina

# NUMERO DE CONTACTOS SINÁPTICOS



**GRAFICA 3** En esta gráfica se muestra la media del número total de botones sinápticos que establecieron contacto simple o doble con la misma estructura post-sináptica en los caudados ipsi (I) y contralateral (C) a la lesión de los tres grupos. En donde \* =  $P < 0.001$ , entre los caudados ipsi y contralateral a la lesión de los grupos 6-OHDA y 6-OHDA+bromocriptina vs los caudados del grupo control.



A

— .4  $\mu\text{m}$



B

— .24  $\mu\text{m}$



C

— .33  $\mu\text{m}$

FIGURA 7

## 12. DISCUSIÓN

Nuestros resultados no mostraron alteraciones entre los caudados ipsi y contralateral de los animales que recibieron solución salina (grupo control), en ninguno de los parámetros analizados. Esto sugiere que no existe algún tipo de lesión cuando se introdujo la micropipeta y se inyectó la solución salina.

### 12.1 INCREMENTO EN EL DIÁMETRO DE LOS BOTONES SINÁPTICOS

Nuestros resultados confirman que la lesión unilateral de la vía nigroestriatal con 6-OHDA provoca que se aumente el diámetro de los botones sinápticos de manera significativa en el caudado ipsilateral, como los que reportan Avila-Costa (1996), Ingham y cols. (1991), donde al lesionar la vía nigroestriatal con 6-OHDA el diámetro de los botones sinápticos se incrementó significativamente. Asimismo Pickel y cols (1992) lesionaron ratas neonatas con la misma neurotoxina, y encontraron incremento en el diámetro de los botones sinápticos inmunorreactivos a tiroxina hidroxilasa. Además el análisis ultraestructural de biopsias del núcleo caudado de pacientes con enfermedad de Parkinson realizados por Colín-Barenque (1994) refiere alteraciones en este mismo parámetro, es decir, los botones sinápticos de los pacientes con enfermedad de Parkinson presentaron aumento en su diámetro estadísticamente significativo con respecto a los sujetos control. Mas aún, se encontró una alta correlación entre las alteraciones que presentan los pacientes con los animales lesionados con 6-OHDA, llegando a la conclusión de que la neurodegeneración en ambos casos es muy similar, validando de manera importante la utilización del modelo experimental (Avila-Costa et al. 1998)

Ahora bien, se ha reportado que la 6-OHDA provoca la generación y acumulación de compuestos citotóxicos que inducen "estrés oxidativo" en las terminales presinápticas de las neuronas dopaminérgicas, lo cual induce la degeneración en primera instancia de las terminales postsinápticas y finalmente de los cuerpos celulares (Ungerstedt, 1968, 1971; Heikkila y Cohen 1971; Zigmond et. al. 1990, Soto-Otero et. al. 2000) En nuestro experimento, los animales lesionados y tratados con bromocriptina presentaron una disminución estadísticamente significativa en el diámetro de los botones presinápticos, con



respecto al grupo de animales lesionados con 6-OHDA. Es decir, este fármaco posiblemente esta reduciendo el edema porque, como se ha reportado, inhibe la peroxidación de lípidos (Ogawa et al. 1994; Yoshikawa et. al. 1994) lo que estaría indicando alguna protección contra la neurodegeneración, por lo tanto puede desempeñar el papel de neuroprotector (Poli et. al. 2000)

## 12.2 ALTERACIONES EN LOS BLANCOS POSTSINÁPTICOS

De acuerdo a nuestros resultados, se observa que la lesión del caudado ipsilateral provocó la pérdida de contactos sinápticos establecidos con las espinas dendríticas, característicos de los contactos dopaminérgicos (Pickel et. al. 1981; Voorn y Bujs, 1987), por lo tanto aumentan los contactos sinápticos establecidos con las dendritas con respecto al grupo control. Estos datos concuerdan con los que son reportados por Avila-Costa y colaboradores (1998), en donde se observó que la enfermedad de Parkinson y la lesión con 6-OHDA en la vía nigroestriatal provoca cambios en el blanco postsináptico en el núcleo caudado. Asimismo Ingham y cols. (1989,1991,1993) y Pickel y cols (1992) con el método de Golgi, reportan que las neuronas espinosas medianas de proyección del núcleo caudado presentan gran pérdida de espinas dendríticas después de la lesión.

En contraste en el caudado ipsilateral de los animales lesionados y tratados con bromocriptina se observó un número mayor de contactos establecidos con las espinas dendríticas --valores muy similares a los observados en los animales control--, que con las dendritas con respecto al grupo lesionado. De acuerdo a esto Ogawa y cols. (1994), Jenner (1995), Yoshikawa y cols (1998), Muralikrishnan y Mohanakumer (1998), Poli y cols. (2000) proponen que la bromocriptina ejerce funciones de antioxidante como "barredor de radicales libres". Estos autores argumentan que este fármaco barre radicales OH<sup>•</sup>, oxido nítrico y superóxido en preparaciones *in vitro* e *in vivo*, además inhibe la autooxidación de la dopamina en homogenados de cerebro *in vitro*, contribuyendo a la reducción de los ROS. Por lo que se puede establecer que posiblemente este fármaco evita la pérdida de los contactos dopaminérgicos, o bien como desempeña el papel de agonista, al unirse a los receptores D<sub>2</sub> en la espina dendrítica (Poli et. al. 2000) evitaría así que ésta se pierda .

### 12.3 NÚMERO DE CONTACTOS SINÁPTICOS

Nuestros resultados muestran que la lesión con 6-OHDA provoca que aumenten los contactos dobles establecidos con la misma estructura postsináptica. Estos resultados concuerdan con los reportados por Avila-Costa (1996) en donde la lesión con 6-OHDA produce que aumenten los contactos sinápticos dobles establecidos con la misma estructura con respecto al grupo control. Asimismo Colín-Barenque (1994) observó aumento en el número de contactos dobles establecidos con la misma estructura, en muestras de núcleo caudado de pacientes con la enfermedad de Parkinson. Asimismo, los animales lesionados y tratados con bromocriptina, aumentaron este tipo de contactos

Una probable explicación de por qué se incrementaron este tipo de contactos, es que con el edema aumenta la zona activa (el contacto), por lo que probablemente esta área se fractura, similar a lo reportado por See y colaboradores (1992) quienes observaron aumento en el número de "sinapsis perforadas" (sinapsis dobles), esto es, que la zona activa es discontinua entonces se observan varios contactos sinápticos establecidos con la misma estructura postsináptica donde antes había solo uno, esto explicaría el por qué el grupo lesionado, y el lesionado y tratado con bromocriptina presentaron un número mayor de contactos sinápticos dobles establecidos con la misma estructura postsináptica

Otra posible explicación del aumento de contactos dobles establecidos con la misma estructura postsináptica, es que el botón sináptico trata de compensar la pérdida de otras terminales, estableciendo o aumentando el número de contactos con la misma estructura postsináptica, observándose posibles mecanismos de plasticidad cerebral (Colín-Barenque et. al. 2000).

## 13. CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados anteriores podemos establecer que la administración de bromocriptina atenúo algunas alteraciones ultraestructurales producidas por la lesión con 6-OHDA, probablemente porque:

- ◆ La bromocriptina es capaz de inhibir directamente la peroxidación de lípidos por lo tanto estaría evitando el edema (Ogawa et al. 1994, Yoshikawa et. al. 1994)
- ◆ La bromocriptina estimula la inhibición de autorreceptores sinápticos dopaminérgicos reduciendo el recambio (recaptura) de la dopamina (Jackson et. al 1988; Ogawa et. al. 1994, Muralikrishan and Mohanakumar, 1998).
- ◆ La bromocriptina promueve y/o estimula la formación de proteínas antioxidantes (como la glutatión peroxidasa, catalasa y SOD, entre otros), contribuyendo al restablecimiento de los sistemas antioxidantes (Muralikrishan and Mohanakumar, 1998; Sawada et. al. 1998)
- ◆ La bromocriptina presenta una acción de "Barredor" o inhibidor de radicales citotóxicos  $\text{OH}^{\cdot}$  y  $\text{O}_2$  (Jackson et. al 1988; Kondo et. al. 1994; Ogawa et. al. 1994, Yoshikawa et al. 1994; Muralikrishan and Mohanakumar, 1998), y al igual que la vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) convierte los radicales libres en compuestos menos dañinos para la célula (Kondo et al. 1994; Poli et. al. 2000).
- ◆ La bromocriptina inactiva los canales de  $\text{Ca}^{**}$  y sus altos niveles intracelulares, así como también los radicales citotóxicos  $\text{O}_2$  inducidos por el glutamato, por lo que posiblemente está protegiendo a la célula de la muerte por excitotoxicidad (Sawada et. al. 1998)

## 14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---A---

- Acikgoz, O. Gonenc, S., Kayatekin, B.K., Uysal, N., Pekcetin, C., Semin, I. y Gure, A. (1998) Methamphetamine causes lipid peroxidation an increase in superoxide dismutase activity in the rat striatum. *Brain Res.* 813: 200-202
- Adinolfi, A. M. y Pappas, G.D. (1968) The fine structure of the caudate nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.* 133: 167-184.
- Agid, Y., Destée, A., Durif, F., Montastruc, J.-L., Pédarriosse, A.-M. and Deptula, D. (1999). Efficacy and tolerability of Tolcapone compared with Bromocriptine in Levodopa-treated Parkinsonian patients. *Movement Disorders.* 14 (1) 38-44.
- Alam, Z.I, Jenner, A, Daniel, S.E., Less, A.J., Cairns, N., Marsden, C.D., Jenner, P y Halliwell, B. (1997). Oxidative DNA damage in the Parkinsonian Brain: an apparent selective increase in 8-hydroxyguanine levels in substantia nigra *J. Neurochem.* 69 1196-1203
- Albin, R.L., Young, A.B. and Penney, J.B. (1989). The functional anatomy of basal ganglia disorders. *TINS* (12) 10: 366-375.
- Alexander, G.E. and Crutcher, M.D (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: Neural substrates of parallel processing *TINS* (13) 7: 266-271.
- Alexi, T., Borlongan, C V , Faull, R.L M., Williams, C.E., Clark, R.G., Gluckman, P.D and Hughes, P E. (2000). Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's diseases. *Progress in Neurobiology* 60: 409-470
- Alexi, T. y Hefti, F. (1996). Neurotrophin-4/5 selectively protects nigral calbindin-containing neurons in rats with medial forebrain bundle transections *Neurosci.* 72. 911-921
- Allen, R.M (1983). Role of amantadine in the manegement of neuroleptic-induced extrapyramidal syndromes: overview and pharmacology. *Clin. Neuropharmacol* 6 (Suppl 1) S64-S73.

- Al-Shabibi, U.M.H. y Davies, J.A. (1981) Glutamic acid decarboxylase (GAD) activity in the rat substantia nigra after discrete bilateral kainic acid-induced lesions of the caudate-putamen and globus pallidus: correlation with locomotor activity. *Brain Res.* 213: 460-466
- Anaya, M.V. (1997). Estudio morfofuncional comparativo entre los trasplantes de medula adrenal colocados en el ventrículo lateral o en el parénquima estriatal. Tesis para obtener el grado de Maestra en neurociencias ENEP-Iztacala. UNAM.
- Anaya-Martínez, V., Montiel-Flores, E., Espinosa-Villanueva, J. and García-Hernández, F. (en prensa). Effects of graft placement site on the survival of adrenal medulla transplants and its relation to the recovery of motor function. *Archives of Medical Research*
- Angulo, J.A. y McEwen, B.S. (1994) Molecular aspects of neuropeptide regulation and function in the corpus striatum and nucleus accumbens. *Brain Res. Rev.* 19: 1-28
- Appel, S.H. (1981). A unifying hypothesis for the causes of amyotrophic lateral sclerosis, parkinsonism and Alzheimer disease. *Ann Neurol.* 10: 499-505
- Arbilla, S., Nowak, J.Z. y Langer, S.Z. (1987). Dopamine receptor mediated inhibition of 3H-acetylcholine release. En: Sandler, M., Feuerstein, C. y Scatton, B. (Eds.) *Neurotransmitter interactions in the basal ganglia*. Raven Press, N.Y.
- Arbuthnott, G.W. (1978) Studies on the interactions between the substantia nigra and the neostriatum. En: Roberts, J.P. (Ed.) *Advances in biochemical psychopharmacology*. Vol 19.
- Arbuthnott, G.W., Macleod, N.K., Brown, J.R., Wright, A.K., Rutherford A. y Ryman A. (1987) The action of 6-OH-dopamine on the striatonigral cells in the rat. En: *Inactivation of Hypersensitive Neurons*, pp. 223-232. Alan R. Liss, N.Y.
- Asanuma, M.H. y Cadet, J.L. (1998). Attenuation of 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic nigrostriatal lesions in superoxide dismutase transgenic mice. *Neurosci.* 85: 907-917.
- Austin, M. y Kalivas, P. (1990) Enkephalinergic and GABAergic modulation of motor activity in the ventral pallidum. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 252: 1370-1377.

- Avila-Costa, M.R. (1996) Evolución de las alteraciones ultraestructurales del neuropilo del núcleo caudado de rata después de la lesión unilateral de la vía nigroestriatal con 6-hidroxi-dopamina. Tesis para obtener el grado de Maestra en neurociencias. ENEP-iztacala UNAM.

- Avila-Costa, Ma Rosa, Colín-Barenque, Laura, Espinosa-Villanueva, Jesús y Machado-Salas, Jesús. (1998). Degeneración del neuropilo del núcleo caudado en la enfermedad de Parkinson y en el modelo experimental provocado con 6-OHDA: análisis ultraestructural comparativo. *Patología*. 36: 297-301.

### ---B---

- Ballard, P.A, Langston, J W. y Tetrad, J.W. (1985) Permanent human parkinsonism due to 1-metil-4-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP): Seven cases. *Neurology* 35 949-956.

- Bankiewicz, K.S, Oldfield, E.H., Chiueh, C.C., Doppman, J.L., Jacobowitz, D M. y Kopin, I J (1986) Hemiparkinsonism in monkeys after unilateral internal carotid artery infusion of 1-methyl-4,phenyl-1,2,3,6,-tetrahydro-pyridine (MPTP). *Life Sci* 39 7-16

- Bannon, M.J, Grace, A.A, Bunney, B.S y Roth, R.H (1986). Evidence for an irreversible interaction of bromocriptine with central dopamine receptors. *Arch. Pharmacol* 123. 109-114

- Barbeau, A. P. (1982). New data on the genetics of Parkinson's disease. *Can J. Neurol. Sci.* 9: 53-60.

- Bartholini, G., Stadler, H., Gadea-Ciria, M. y Lloyd, K.G. (1976). *Neuropharmacology* 15: 515-519 En, Sandler, M., Feuerstein, C. y Scatton, B. (Eds). *Neurotransmitter interactions in the basal ganglia*. Raven Press, N.Y.

- Bartholini, G (1987) Functional neuronal relations in the basal ganglia and their clinical relevance En, Sandler, M, Feuerstein, C. y Scatton, B. (Eds) *Neurotransmitter interactions in the basal ganglia*. Raven Press, N.Y.

- Beck, K.D. (1994) Functions of brain-derived neurotrophic factor, insulin-like growth factor-I and basic fibroblast growth factor in the development and maintenance of dopaminergic neurons. *Prog. Neurobiol.* 44: 497-516.

- Beck, K D . Vaiverde, J., Alexi, T., Poulsen. K., Moffat, B., Vandlen. R A., Rosenthal, A and Hefti, F (1995). GDNF protects mesencephalic dopaminergic neurons from axotomy-induced degeneration in the adult brain *Nature* 373. 339-341.
- Beker, A B. y Joynt, R.J. (1990). Extrapiramidal disease In: *Clinical Neurology* Vol. 3 Chap. 38: 1-67. Harper and Row
- Bergman, H. Wichmann, T. and DeLong, M (1990). Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus *Science* 249: 1436-1438
- Bernheimer, H., Birkmayer, W., Hornykiewics, O., Jellinger, K and Seitelberger, F (1973). Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington clinical morphological and neurochemical correlations *J Neurol Sci.* 20. 415-455.
- Bevan M D., Clark, N. P. and Bolam, J.P (1997). Synaptic integration of functionally diverse pallidal information in the entopeduncular nucleus and subthalamic nucleus in the rat. *J. Neurosci.* 17: 308-324
- Bishop, G.A., Chang, H T. and Kitai, S T (1982). Morphological and physiological propierties of neostriatal neurons:an intracellular horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience* 7 (1): 179-191.
- Blandini, F. and Greenamyre, J T. (1998) Prospects of glutamate antagonists in the therapy of Parkinson´s disease *Fundam. Clin. Pharmacol* 12 4-12
- Bolam, J.P., Somogyi, P , Totterdel, S and Smith, A.D (1981). A second type of striatonigral neuron a comparison between retrogradely labelled and golgi stained neurons at the ligh and electron microscopic levels. *Neuroscience* 6 (11): 2141-2157.
- Bolam, J.P., Somogyi, P , Takagi, H , Todor, I y Smith, A.D (1983) Localization of substance P-like immunoreactivity in neurons and nerve terminals in the neostriatum of the rat: a correlated light and electron microscopic study. *J. Neurocytol* 12 325-344.
- Bolam, J P., Smith, A.D and Wainer, B.H. (1984). Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combined of choline acethyltransferase immunocytochemistry Golgi impregantion and electron microscopy. *Neurosci.* 12 711-712
- Bolam. J P e Izzo, P.N. (1987) Possible sites of transmitter interaction in the neostriatum: An anatomical aproach En, Sandler, M., Feuerstein, C y Scatton, B (Eds.) *Neurotransmitter interactions in the basal ganglia.* Raven Press, N Y

- Bolam, J.P., Izzo, P.N. y Graybiel, A.M. (1988) Cellular substrate of the histochemically defined striosome/matrix system of the caudate nucleus: A combined Golgi and immunocytochemical study in cat and ferret. *Neurosci* 24(3): 853-875
- Braak, H. and Braak, E. (1982). Neuronal types in the striatum of man. *Cell Tissue Res* 227: 319-342.
- Brecknell, J.E., Dunnet, S.B. and Fawcett, J.W. (1995). A quantitative study of cell death in the substantia nigra following mechanical lesion of the medial forebrain bundle. *Neurosci.* 64: 219-227.
- Brown, J.R. y Arbuthnott, G.W. (1983) The electrophysiology of dopamine (D<sub>2</sub>) receptors. a study of the actions of dopamine on corticostriatal transmission. *Neuroscience* 10 349-355
- Burke, R.E. (1999) Parkinson's disease. En. E.V. Koliastos y R.R. Ratan (eds) *Cell Death and Diseases of the Nervous System*. Humana Press, New Jersey pp. 459-475.
- Burns, R.S., Chiuah, C., Markey, S.P., Ebert, M.H., Jacowitz, D.M. y Kopin, I.J. (1983) A primate model of parkinsonism: Selective destruction of dopaminergic neurons in pars compacta of the substantia nigra by MPTP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 4546-4550.
- Butcher, S.G. y Butcher, L.L. (1974) Origin and modulation of acetylcholine activity in the neostriatum. *Brain Res.* 71: 167-171

---C---

- Calabresi, P., Misgeld, U. and Dodt, H. U. (1987) Intrinsic membrane properties of neostriatal neurons can account for their low level of spontaneous activity. *Neuroscience* 20 (1) 293-303
- Calabresi, P., Mercuri, N.B., Sancesario, G. y Bernardi, G. (1993). Electrophysiology of dopamine-denervated striatal neurons. Implications for Parkinson's disease. *Brain*, 116, 433-452
- Calne, D.B. (1978) Parkinsonism, clinical and neuropharmacologic aspects. *Postgrad. Med* 64: 82-88. En: Di Chiara, G., Morelli, M. y Consolo, S. (Eds.) *Modulatory functions of neurotransmitters in the striatum. ACh/dopamine/NMDA interactions*. *TINS*, 17 (1994)6



- Carlsson, M. and Carlsson, A (1990) Interactions between Glutamatergic and monoaminergic system within the basal ganglia-implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *TINS*. 13,7, 272-276.
- Carman, L.S., Gage, F.H. y Schults, W.(1991). Partial lesions of substantia nigra Relation between extent of lesion and rotation behavior. *Brain Res*. 553: 275-283
- Carpenter, M.B. (1976). Anatomical organization of the corpus striatum and related nuclei. En, Melvin, D. y Yahr, M.D. (Eds.) *The basal ganglia*. Raven Press, N.Y.
- Carpenter, M.B. (1981) *Anatomy of the corpus striatum and brain stem integrating systems* En, Brooks, V. (Ed.). *Handbook of Physiology: The nervous systems, motor control* American Physiological Society, Bethesda, M.D.
- Cassarino, D S. y Bennet Jr. J P. (1999). An evaluation of the role of mitochondria in neurodegenerative diseases: mitochondrial mutations and oxidative pathology, protective nuclear responses and cell death in neurodegeneration. *Brain Res. Review*. 29-125.
- Christofferson, C.L. and Meltzer, L.T. (1995). Evidence for N-Methyl-D-aspartate and AMPA subtypes of the glutamate receptor on substantia nigra dopamine neurons possible preferential role for N-Methyl-D-aspartate receptors. *Neurosci*. 67: 373-381
- Clark, D. and White, F.J. (1987). D<sub>1</sub> dopamine receptor the search for a function *Synapse* 1: 347-388
- Cohen, G. and Heikkila, R.E. (1974). The degeneration of hydrogen peroxide, superoxide radical and hydroxyl radical by 6-hydroxydopamine, dialuric acid and related cytotoxic agents. *J. Biol. Chem* 249 2447-2452.
- Colín Barenque, L (1994) Estudio morfológico del núcleo caudado del ser humano normal y con enfermedad de Parkinson: Un estudio con el método de Golgi y microscopía electrónica. Tesis para obtener el grado de Maestra en neurociencias ENEP-Iztacala. UNAM.
- Colín-Barenque Laura\*, Avila-Costa Ma.Rosa, Espinosa-Villanueva Jesús y Machado-Salas Jesús P (2000). Análisis ultraestructural comparativo en pacientes con enfermedad de Parkinson y ratas viejas. *Arch Neurocién (Mex)* Vol.5 No. 4.168-173.

- Connop, B.P., Boegman, R.J., Jhamandas, K. and Beninger, R.J. (1995). Excitotoxic action of NMDA agonists on nigrostriatal dopaminergic neurons: modulation by inhibition of nitric oxide synthesis. *Brain Res.* 676: 124-132.
  - Connop, B.P., Boegman, R.J., Beninger, R.J. and Jhamandas, K. (1996). Attenuation of malonate-induced degeneration of the nigrostriatal pathway by inhibitors of nitric oxidese synthase. *Neuropharmacology.* 35: 459-465.
  - Corrodi, H. Fuxe, K., Hokfelt, T y Ungerstedt, U. (1973). Effects of ergot drugs on central catecholamine neurons: evidence for a stimulation of central dopamine neurons. *J Pharmacol.* 25: 409-412.
  - Coté, L. and Crutcher, M.D. (1991). Motor functions of the basal ganglia and transmitters metabolism. En: Kandel, E.R., Schwartz, J M. and Jesell, T M (Eds.) *Principles of neural Science.* Elsevier USA.
  - Cotzias, G.C., Van Woert, M.H. y Schiffer, L.M. (1967). Aromatic aminoacids and modification of Parkinson. *New Eng. J Med.* 276 374-379.
  - Crossman, A.R. (1989). Neural mechanisms in disorders of movements. *Comp Biochem. Physiol* 93A: 141-149
  - Crossman, A.R (1990) A hypothesis on the patophysiological mechanisms that underlie levodopa- or dopamine agonist-induced dyskinesia in Parkinson´s disease implications for future strategies in treatment. *Movement Disord.* 5: 100-108
  - Crutcher, M.D. y DeLong, M R. (1984) Single cell studies of the primate putamen I: Functional organization *Exp. Brain Res.* 53. 233-243.
  - Cuello, A C. (1987) Cholinergic components of the basal ganglia. En, Sandler, M ,Feuerstein, C. y Scatton, B (Eds.) *Neurotransmitter interactions in the basal ganglia.* Raven Press, N Y
- CH---
- Chang, H.T., Wilson, C J and Kitai, S.T. (1982) Single neostriatal efferent axons in the globus pallidus: A light and electron microscopic study. *Science.* 213 918-918
  - Chang, H.T., and Kitai, S.T (1982) Large neostriatal neurons in the rat an electron microscopic study of gold-tone Golgi-stained cell *Brain Res. Bull.* 8: 631-643.

- Chan, P , DiMonte, D A., Langston, J.W. and Janson, A M (1997). (+)MK-801 does not prevent MPTP-induced loss of nigral neurons in mice. *J Pharmacol. Exp Ther* 280: 439-446.
- Chesselet, M.F. and Graybiel, A.M. (1986). Striatal neurons expressing somatostatin-like immunoreactivity: evidence for a peptidergic interneuronal system in cat. *Neuroscience* 17: 547-571
- Chesselet, M.F. and Delfs, J.M. (1996) Basal ganglia and movements disorders: an update. *TINS* 19 (10): 417-422.
- Chiva, K , Trevor, A J. Y Castagnoli, N. (1985) Active uptake of MPP+, a metabolite of MPTP, by brain synaptosomes *Biochem. Biophys. Res. Commun* 128. 1229-1232

#### ---D---

- Dahlström, A., y Fuxe, K. (1964) Evidence for the existence of monoamine- containing neurons in the central nervous system. *Acta Physiol Scand. Suppl.* 236 (62) 5-55
- Davies, J. y Dray, A. (1976) Substance P in substantia nigra. *Brain Res.* 107: 623-627
- Davies, G.C., Williams. A.C., Markey. S P., Ebert, M N , Caine, E D , Reichert, C.M y Kopin, I.J (1979). Chronic parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogs. *Psychiatry Res.* 1: 249-254.
- DeBoer, P., Abercrombie, E.D., Heeringa, M y Westerink, B.H.C. (1993). Differential effect of systemic administration of bromocriptine and L-Dopa on the release of acetylcholine from striatum of intact and 6-OHDA- treated rats. *Brain Res.* 608: 198-203
- DeLong, M.R (1974). Motor functions of the basal ganglia Single unit activity during movement, En: *Neuroscience*, 3th study program Schmit, F O and Worden, F G (Eds ) Cambridge MIT Press. pp. 319-324
- DeLong, M.R. and Georgopoulos, A.P. (1981). Motor functions of the basal ganglia. In. J.M Brookhart V.B., Mouncastle, V.B Brooks and S.R. Geiger (Eds.), *Handbook of Physiology. Sect 1. The nervous system Vol.2. Motor control Part.2* American Physiology Society, Bethesda, M.A. pp. 1017-1061
- DeLong, M.R. (1990) Primate models of movement disorders of basal ganglia origin *TINS*, 13,7, 281-285.

- Desban, M., Kemel, M.L., Glowinski, J. y Gauchy, C. (1993) Spatial organization of patch and matrix compartments in the rat striatum. *Neurosci.* 57(3) 661-671.
- Descarries, L., Bosler, O., Berthelet, F., y Des Rosiers, M.H. (1980) Dopaminergic nerve endings visualized by high resolution autoradiography in adult rat neostriatum. *Nature.* 284: 620-622.
- Descarries, L., Soghomonian, J., García, S., Doucet, G. y Bruno, J.P. (1992) Ultrastructural analysis of the serotonin hyperinnervation in adult rat neostriatum following neonatal dopamine denervation with 6-hydroxydopamine.
- Dewar, D., Jenner, P. y Marsden, C. (1987) Effects of opioid agonist drugs on the in vitro release of [<sup>3</sup>H]GABA, [<sup>3</sup>H]dopamine and [<sup>3</sup>H]5-HT from slices of rat globus pallidus. *Biochem. Pharmacol.* 36:1738-1741.
- Dexter, D.T., Carter, C.J., Wells, F.R., Javoy-Agid, F., Agid, Y., Less, A., Jenner, P. y Marsden, C.D. (1989). Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 52: 381-389.
- De Yébenes, J.G., García-Ruiz, P.J. y Sánchez-Pernaute, R. (1997) Estudio comparativo del efecto de la bromocriptina y el Pergolide en la enfermedad de Parkinson. *Rev. Neurol.* 25 (145): 1343-1345.
- Di Chiara, G., Porceddu, M.L., Vargui, L., Stefanini, E. y Gessa, G.L (1977) Evidence for selective and long-lasting stimulation of "regulatory" dopamine-receptors by bromocriptine (CB-154). *Arch. Pharmacol.* 300:239-245
- Di Chiara G. y Morelli, M. (1993) Dopamine-Acetylcholine-Glutamate interactions in the striatum. A working hypothesis. En: Narabayashi, H., Nagatsu, T., Yanagisawa, N. y Mizuno, Y. (Eds.) *Advances in Neurology.* Vol. 60. Raven Press, N.Y.
- Di Chiara, G., Morelli, M. y Consolo, S (1994) Modulatory functions of neurotransmitters in the striatum: ACh/dopamine/NMDA interactions. *TINS*, 17 (6)
- Difazio, M.C., Hollingsworth, Z., Young, A. and Penny, J. (1992) Glutamate receptors in the substantia nigra of Parkinson's disease brains. *Neurology* 42: 402-406
- Di Figlia, M., Pasik, T. and Pasik, P (1976). A golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res.* 114: 245-256

- Di Figlia, M., Pasik, T y Pasik, P. (1980) Ultrastructure of Golgi-impregnated and Gold-toned spiny and aspiny neurons in the monkey neostriatum. *J Neurocytol.* 9: 471-492.
- Di Figlia, M., Aronin, N. and Martin, J.B. (1982). Light and electron microscopic localization of immunoreactive Leu-enkephalin in the monkey basal ganglia. *Neurosci.* 5: 1581-1596.
- Di Monte, D A., Royland, J.E., Jakowec, M.W. y Langston, J W. (1996). Role of nitric oxide in methamphetamine neurotoxicity. protection by 7-nitroindazole, an inhibitor of neuronal nitric oxide synthase. *J. Neurochem.* 67: 2443-2450.
- Dimova, R , Vuillet, J. and Seite, R. (1980). Study of the rat neostriatum using a combined golgi-electron microscope technique and serial sections. *Neurosci* 5: 1581-1596
- Divac, I (1977) Does the neostriatum operate as a functional entity? En: Cools, A.R.; Lohman, A.H.M. y Van den Bercken, J.H.L. (Eds.) *Psychobiology of the striatum* Amsterdam, Elsevier. p 21-30
- Donnan, G.A., Kaczmarczyk, S.J, McKenzie, J S., Rowe, R., Kalnins, R.M. y Mendelsohn, F.A, (1987). Regional and temporal effects of 1-methyl-4,phenyl-1,2,3,6,-tetrahydropyridine (MPTP) on dopamine uptake sites in mouse brain. *J. Neurol. Sci* 81: 261- 271.
- Dravid, A., Jatton, A.L , Enz, A. y Frei, P. (1984). Spontaneous recovery from motor asymmetry in adult rats with 6-hydroxydopamine-induced partial lesions of the substantia nigra. *Brain Res* 311: 361- 365.
- Duvoisin, R. (1967). Cholinergic-anticholinergic antagonism in Parkinsonism. *Arch Neurol* 17: 124-136.

---E---

- Elizan, T S. and Casals, J. (1983) The viral hypothesis in Parkinsonism. *J Neurol. Transm. Suppl.* 19 75-88

## ---F---

- Flaherty, A.W. and Graybiel, A M. (1991). Corticostriatal transformations in the primate somatosensory system. Projections from physiologically mapped body-part representations. *J. Neurophysiol.* 66: 1249-1263.
- Fornaguera, J , Schwarting, R.K.W., Boix, F. y Huston, J.P. (1993) Behavioral indices of moderate nigro-striatal 6-hydroxydopamine lesion: A preclinical Parkinson's model. *Synapse* 13: 179-185.
- Forno, L S. (1982). *Movement disorders*. Butterworth Scientific, London. p 25 En: Garcia-Hernández, F. y Massieu-Trigo, L. (1993) *Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: Avances teoricos y experimentales* *Ciencia.* 44: 455-472.
- Fox, C.A. Andrade, A.N., Schwyn, R C. and Rafols, S J A. (1971). The aspiny neurons and the glia in the primate striatum: A golgy and electron microscopic study. *J. Hirnforsch* 13: 341-362.
- Fox, C.A., Rafols, J.A and Cowan, W.M. (1975). Computer measurements of axis cylinder diameters of radial fibers and "comb" bundle fibers. *Comp Neurol* 159: 201-224
- Fuxe, K., Hökfelt, t., y Nilsson, O. (1965) A fluorescence and electronmicroscopic study on certain brain regions rich in monoamine terminals. *An. J. Anat.* 117. 33-46.
- Freund, T.F., Powell, J.F. y Smith, A.D. (1984) Tyrosine hydroxylase-immunoreactive boutons in synaptic contact with identified striatonigral neurons, with particular reference to dendritic spines. *Neurosci* 13(4): 1189-1215.

## ---G---

- Galarraga, E , Bargas, J. Martinez-Fong, D. and Aceves, J. (1987). Spontaneous synaptic potentials in dopamine-denervated neostriatal neurons. *Neuroscience letter* 81. 351-355
- Gerfen, C.R. (1984) The neostriatal mosaic: Compartmentalization of corticostriatal input and striatonigral output systems. *Nature* 311:461-464
- Gerfen, C.R. (1985) The neostriatal mosaic I Compartmental organization of projectios from the striatum to the substantia nigra in the rat. *J. Comp Neurol.* 236. 454-476.

- Gerfen, C.R. (1987) The neostriatal mosaic: The reiterated processing unit. En. Sandler, M., Feuerstein, C. y Scatton, B (Eds ) Neurotransmitter interactions in the basal ganglia Raven Press, N Y.
- Gerfen, C.R y Young. W.S. (1988) Distribution of striatonigral and striatopallidal peptidergic neurons in both patch and matrix compartments: An in situ hybridization histochemistry and fluorescent retrograde tracing study. Brain Res. 460: 161-167
- Gerfen, C.R., Engber, T.M., Mahan, I.C , Susel. Z., Chase, T N., Monsma, F.J y Sibley, D.Y. (1990) D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. Science, 250:1429-1431
- Gerfen, C.R. (1992) D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> dopamine receptor regulation of striatonigral and striatopallidal neurons. seminars in The Neurosciences, 4(2): 109-119.
- Gerfen, C.R. (1992a). The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. TINS 15. 133-139
- German, D C., Manaye, K F., Sonalla, P.K y Brook, B A (1992). Midbrain dopaminergic cell loss in Parkinsonism: sparing of calbindin-D<sub>28K</sub>-containing cell. Ann.NYAS.648: 42-62 En: Alexi, T., Borlongan, C.V., Faull, R.L.M., Williams, C.E., Clark, R G., Gluckman, P.D and Hughes, P.E. (2000). Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's diseases. Progress in Neurobiology 60: 409-470.
- Gianutsos, G., Stewart, C. y Dunn, P J (1985) Pharmacological changes in dopaminergic systems induced by long term administration of amantadine Eur. J Pharmacol. 110 357-361.
- Gibb, W.R G. and Less, A.J. (1991) Anatomy, pigmentation ventral and dorsal suboculations of the sustantia nigra and differential cell death in Parkinson's disease. J Neurol Neurosurg Psych 54 388-396.
- Gingrich, J A and Caron, M.G (1993) Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. Annu. Rev. Neurosci. 16: 299-321
- Goetz, C.G., Blasucci, L. and Stebbins, G.T. (1999). Switching dopamine agonists in advanced Parkinson's disease. Is rapid titration preferable to slow? Neurology. 52. 1227-1229.

- Golbe, Li., Iorio, G., Bonavita, V. (1990) A large kindred with autosomal dominant Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 27: 276-282.
- Goldman, P.S. y Nauta, W.J.H. (1977) An intricately patterned prefronto-caudate projection in the rhesus monkey. *J Comp. Neurol.* 171. 369-385.
- Goldman-Rakic, P.S. y Selemon, D.L. (1990) (Eds ) Basal ganglia research. *TINS* 13: 241-307.
- González-Fraguela, M.E., Céspedes, E.M., Arencibia, R., Broche, F., Gómez, A.A., Castellano, O. and García, J.C (1998) Indicadores de estrés oxidativo y efecto del tratamiento antioxidante en pacientes con enfermedad de Parkinson primaria. *Rev. Neurol.* 26 (149): 28-33.
- Gowers, K. (1887). *Réflexions pratiques sur les dangers des systèmes en médecine.* Paris. En: Schneider, J.S. (1987). *Functions of the basal ganglia. An Overview* En Lidsky, T.I. (Eds.). *Basal ganglia and Behavior. Sensory aspects of motor functioning.* Hans Huber, Publishers. N.Y
- Graham, D.G., Tiffani, S.M. and Bell, W R (1978). Autoxidation versus covalent binding of quinones as the mechanism of toxicity of dopamine, 6-hydroxydopamine, and related compounds towards C1300 neuroblastoma cell in vitro. *Mol Pharmacol* 14. 644-653.
- Graveland, G A., Williams, R S and DiFiglia, M. (1985). A golgi study of the human neostriatum: neurons and afferents fibers. *Journal of comparative neurology.* 234: 317-333.
- Graybiel, A M , Pickel, V.M., Joh, T J., Reis, D.J. y Ragsdale, C.W. (1981) Direct demonstration of a correspondence between dopamine islands and acetylcholinesterase patches in the developing striatum. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 77: 1214-1219.
- Graybiel, A.M. (1990). The basal ganglia and the initiation of movement. *Res Neurol.* 146 (10): 570-574.
- Graybiel, A.M., Aosaki, T, Flaherty, A W. and Kimura, M. (1994). The basal ganglia and adaptive motor control. *Science* 265: 1826-1831.
- Greenamyre, J.T. (1993) Glutamate-dopamine interactions in the basal ganglia relationship to Parkinson's disease. *J. Neural Transm.* 91: 255-269.



- Grofova, I. (1975) The identification of striatal and pallidal neurons projecting to substantia nigra. An experimental study by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 91: 286-291.
- Groves, P.M. (1980) Synaptic endings and their postsynaptic targets in neostriatum: synaptic specializations revealed from analysis of serial sections. *Proc. Natl Acad Sci.* 77(11) 6926-6929.
- Groves, P.M., Linder, J.C. y Young, S.J. (1994) 5-hydroxydopamine-labeled dopaminergic axons: three-dimensional reconstructions of axons, synapses and postsynaptic targets in rat neostriatum. *Neurosci.* 58(3) 593-604.

---H---

- Hallman, H., Lange, J., Olson, L. y Stromberg, I. (1985). Neurochemical and histological characterization of 1-methyl-4,phenyl-1,2,3,6,-tetrahydropyridine on brain catecholamine neurons in the mouse. *J. Neurochem* 44: 117-127.
- Hattori, S.N., McGeer, E.G. y McGeer, P.L. (1976) Synaptic morphology in the neostriatum of the rat. Possible serotonergic synapse. *Neurochem. Res* 1: 451-167.
- Hefti, F., Melamed, E. y Wurtman, R.J. (1980). Partial lesions of the dopaminergic nigrostriatal system in rat brain: Biochemical characterization. *Brain Res* 195: 123-137
- Hefti, F. (1997). Pharmacology of neurotrophic factors *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol* 37:239-267.
- Heikkila, R. y Cohen, G. (1971) *Science*, 172, 1257-1258. En: García-Hernández, F. y Massieu-Trigo, L. Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: Avances Teóricos y Experimentales. *Ciencia*, 44 455-472.
- Heikkila, R.E., Hess, A. y Duvoisin, C. (1984). Dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4,phenyl-1,2,3,6,-tetrahydropyridine (MPTP) in the mouse: *Science* 224. 1451-1453.
- Heikkila, R.E., Hess, A. y Agid, A. (1985). Dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4,phenyl-1,2,3,6,-tetrahydropyridine (MPTP) in the mouse Relationships between monoamine oxidase, MPTP metabolism and neurotoxicity. *Life Sci* 36, 231-236

- Henry, B., Crossman, A.R. and Brotchie, M.J. (1999). Effect of repeated L-dopa, Bromocriptine, or Lisuride administration on preproenkephalin-A and preproenkephalin-B mRNA levels in the striatum of the 6-Hydroxydopamine-lesioned rat. *Experimental Neurology*. 155: 205-220.
  - Herkenmhan. M. y Pert, C.B. (1981) Mosaic distribution of opiate receptors, parafascicular projections and acetylcholinesterase in rat striatum. *Nature*, 291.
  - Herrera-Marschitz, M., Christensson-Nylander, I., Sharp, T., Staines, W., Reid, M., Hokfelt, T., Terenius, L. y Ungerstedt, U. (1986). Striato-nigral dinorphins and substance P in the rat. *Exp. Brain Res.* 64: 193-207.
  - Horger, B.A., Mishimura, M.C., Armannini, M P., Wang, L.C., Poulsen, K.T , Rosenbland, C , Kirik, D., Moffat, B., Simmons, L., Johnson Jr.E Milbrandt, J., Rosenthal, A., Bjorklund, A., Vandlen, R.A., Hynes, M A. y Phillips, H.S. (1998) Neurturin exerts potent actions on survival and function of midbrain dopaminergic neurons. *J. Neurosc.* 18:4929-4937.
  - Hornykiewicks, O. (1966). Dopamine (3-Hydroxytyramine) and brain functions. *Pharmacol. Rev.* 18: 925-964.
  - Hoover, J.E. y Strick, P.L. (1993) Multiple output channels in the basal ganglia. *Science* 259: 819-821
- |---
- Iida, M., Miyazaki, I., Tanaka, K-i , Kabuto, H., Iwata-Ichikawa, E. and Owaga, N. (1999). Dopamine D2 receptor-mediated antioxidant and neuroprotective effects of ropinirole, a dopamine agonist. *Brain Research.* 838. 51-59.
  - Ingham, C.A., Hood, C.H. and Arbuthnot, G.W. (1989). Spine density on neostriatal neurons change with 6-hydroxydopamine lesions and with age. *Brain Res.* 503: 334-338
  - Ingham, C.A., Hood, S.H. and Arbuthnot, G W. (1991). A light and electron microscopical study of enkephalin-immunoreactive structures in the rat neostriatum after removal of the nigrostriatal dopaminergic pathway. *Neurosci.* 42 (3): 715-730.
  - Ingham, C.A., Hood, S H , VanMaldegen, B., Weenink, A. and Arbuthnot, G.W. (1993). Morphological changes in the rat neostriatum after unilateral 6-hydroxydopamine injections into the nigrostriatal pathway. *Exp. Brain Res.* 93: 17-27

- Iversen, S.D. (1977) Brain dopamine systems and behavior. En. Iversen, L.L., Iversen S.D. y Snyder S.H. (Eds.) Handbook of Psychopharmacology. New York: Plenum, p 333-384.

---J---

- Jackson, M.D., Owen, F.J. and Ross, B.S (1988). The motor effects of Bromocriptine.- a review. Psychopharmacology 95: 433-446.

- Jackson, D.M. and Westlind-Danielsson, A. (1994). Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavior aspects. Pharmacol. Ther. 64: 291-369.

- Jackson-Lewis, V., Jakowec, M , Burke, R.E. y Przedborski, S. (1995). Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4,phenyl-1,2,3,6,-tetrahydropyridine. Neurodegeneration. 4: 257-269.

- Jellinger, K. (1990). New developments in the pathology of Parkinson´s disease Adv Neurol. 45: 1-8.

- Jedrzejewska, A., Wierzba-Bobrowicz, T., Olejniczak, P., Poszwinska, Z. and Dymecki, J. (1990). Ultrastructure and immunocytochemistry of the left and right nigrostriatal system after lesion of righth side of sustantia nigra of rat. Adv Neurol 53. 41-49.

- Jenner, P. (1995) The rationale for the use, of dopaminergic agonists in Parkinson´s disease. Neurology 45 (Suppl 3):S6-S12

- Jeon, B.S , Jackson-Lewis, V. and Burke, R.E. (1995). 6-hydroxydopamine lesion of the rat substantia nigra: time course and morphology of cell death Neurodegeneration. 4: 131-137.

- Jiménez-Jiménez, F.J., Ayuso-Peralta, L , Molina, J.A. and Cabrera-Valdivia, F. (1999) ¿Influyen los antioxidantes de la dieta en el riesgo para desarrollar enfermedad de Parkinson?. Rev Neurol 29 (8). 741-744.

- Johannessen, J.N , Chiueh, C.C , Burns, R.S. y Markey, S P (1985). Diferences in the metabolism of MPTP in the roedent and primate parallel diferences in sensitivity to its neurotoxic effects. Life Sci. 36: 219-224.

- Johnson, T.N. and Rosvold, H.E. (1971) Topographic projections on the globus pallidus and the substantia nigra of selectively placed lesions in the precommissural caudate nucleus and putamen in the monkey. *Exp. Neurol.* 33: 584-596.
- Jones, E.G., Coutler, J.D., Burton, H. y Porter, R. (1977) Cell origin and terminal distribution of corticostriatal fibers arising in the sensory-motor cortex in monkeys *J Comp. Neurol.* 173: 53-80.
- Joyce, N.J (1991) Differential response of striatal dopamine and muscarinic cholinergic receptor subtypes to the loss of dopamine I. Effects of intranigral or intracerebroventricular 6-hydroxydopamine lesions of the mesostriatal dopamine system. *Exp. Neur.* 113. 261-276.
- Joyce, N.J. (1991 a) Differential response of striatal dopamine and muscarinic cholinergic receptor subtypes to the loss of dopamine II. Effects of 6-hydroxydopamine or colchicine microinjections in to the VTA or reserpine treatment. *Exp. Neur.* 113: 277-290.
- Joyce, N.J. (1993). Differential response of striatal dopamine and muscarinic cholinergic receptors subtypes to the loss of dopamine III Results in Parkinson´s disease cases. *Brain Research* 600: 156-160.

---K---

- Kanthasamy, A G., Kanthasamy, A., Matsumoto, R.R., Vu, T Q and Truong, D.D. (1997) Neuroprotective effects of the strychnine-insensitive glycine site NMDA antagonist (R)-HA-966 in an experimental model of Parkinson´s disease. *Brain Res.* 759: 1-8.
- Kawaguchi, Y., Wilson, C.J., Augood, S.J and Emson, P.C. (1995). Striatal interneurons chemical, physiological and morphological characterization. *TINS* 18 (12): 527-535.
- Kemp, J.M. y Powell, T.P.S. (1971). The structure of the caudate nucleus of the cat Light and electron microscopy. *Phil. Trans Roy. Soc. Lond. Ser. B.* 262: 383-401
- Kienzl, E., Jellinger, K, Stachelberger, H. and Linert, W. (1999). Iron as catalyst for oxidative stress in the pathogenesis of Parkinson´s disease. *Life Sciences.* 65 (18/19): 1973-1976.

- Kiraly, I and Van Ree, J.M. (1984) Non-opiate beta-endorphin fragments and dopamine VI. Behavioural analysis of the interaction between gamma-type endorphins and dopaminergic systems in the nucleus accumbens of rat. *Neuropharmacology* 23 511-516.
- Knusel, B., Beck, K.D., Winslow, J.W., Rosenthal, A., Burton, L.E., Widmer, H.R., Nikolics, K. and Hefti, F. (1992). Brain-derived neurotrophic factor administration protects basal forebrain cholinergic but not nigral dopaminergic neurons from degenerative changes after axotomy in the adult rat brain. *J Neurosci.* 12: 4391-4402.
- Kocsis, J.D., Sugimori, M. y Kitai, S.T. (1977) Convergence of excitatory synaptic inputs to caudate spiny neurons. *Brain Res.* 124: 403-413
- Kondo, T., Ito, T. and Sugita, Y. (1994). Bromocriptine scavenges methamphetamine-induced hydroxyl radicals and attenuates dopamine depletion in mouse striatum *Neurobiology.* 738: 222-229
- Korczyn, A.D., Brooks, D.J., Brunt, E.R., Poewe, W.H., Rascol, O. and Stocchi, F. (1998). Ropinirole versus Bromocriptine in the treatment of early Parkinson's disease: A 6-month interim report of a 3-Year study. *Movement Disorders.* 13 (1): 46-51.
- Korczyn, A.D., Brunt, E.R., Larsen, J.P., Nagy, Z., Poewe, W.H. and Ruggieri, S. (1999). A 3-year randomized trial of ropinirole and bromocriptine in early Parkinson's disease. *Neurology.* 53: 364-370.
- Kornhuber, H.H. (1974) Cerebral cortex, cerebellum, and basal ganglia. An introduction to their motor functions. En: *Neurosciences, Third study Program* F.O. Scmitt and F.G. Worden (Eds.) Cambridge: MIT Press, 1974. 267-280.
- Kondo, T., Ito, T. and Sugita, Y. (1994). Bromocriptine scavenges methamphetamine-induced hydroxyl radicals and attenuates dopamine depletion in mouse striatum. *Ann. N.Y Acad. Sci.* 738: 222-229.
- Kosinski, C.M., Standaert, D.G., Testa, C.M., Penny Jr. J.B. and Young, A.B. (1998). Expression of metabotropic glutamate receptor 1 isoforms in the substantia nigra pars compacta of the rat *Neurosci.* 86 783-798
- Kowalsky, C. y Giraud, P. (1993). Dopamine decreases striatal enkephalin turnover and proenkephalin messenger RNA abundance via D2 receptor activation in primary striatal cell cultures. *Neurosci* 53(3) 665-672.

- Kubota, Y., Inagaki, S. y Kito, S. (1986). Innervation of substance P neurons by catecholaminergic terminals in the neostriatum. *Brain Res* 375: 163-167.
- Kubota, Y., Inagaki, S., Kito, S. y Wu, J. (1987) Dopaminergic axons directly make synapses with GABAergic neurons in the rat neostriatum. *Brain Res* 406: 147-156.
- Kulisevsky, J. (1997). Tratamiento inicial de la enfermedad de Parkinson. *Rev Neurol (Suppl 2)*. 25: S163-S169.
- Kunzle, H. (1975) Bilateral projections from precentral motor cortex to the putamen and other parts of the basal ganglia. An autoradiographic study in *Macaca fascicularis*. *Brain Res* 88:195-210
- Kunzle, H. (1978) An autoradiographic analysis of the efferent connections from premotor and adjacent prefrontal regions (areas 6 and 9) in *Macaca fascicularis*. *Brain Behav Evol* 15: 185-234.
  
- L---
- Lange, K.W. (1994). Neuroprotection by dopamine agonists. *J Neural Transm (Supplementum)*. 43: 183-201.
- Langston, J.W., Ballard, P.A. and Tetrud, J.W. (1983). Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine analog synthesis. *Science* 219: 979-980
- Langston, J.W., Forno, L.S., Rebert, C.S. e Irwin, I. (1984) Selective nigral toxicity after systemic administration of MPTP in the squirrel monkey. *Brain Res*. 292.390-394.
- Langston, J.W., Irwin, I. and Ricaute, G.A. (1987). Neurotoxin parkinsonism and parkinson's disease. *Pharmacol. Ther.* 32: 19-49.
- Lavoie, B. y Parent, A. (1991). Dopaminergic neurons expressing calbindin in normal and parkinsonian monkeys. *Neuro Report*. 2:601-604.
- Leach, J.D., Herdegen, T., Murashov, A., Dragunow, M. and Bravo, R. (1993). Expression of immediate early gene proteins following axotomy and inhibition of axonal transport in the central nervous system. *Neurosci* 57: 53-66.
- Lees, A.J. (1991) Selegiline hydrochloride and Cognition. *Acta Neurol Scand* 84. Suppl 136. 91-94.

- LeMoine, C , Normand, E , Guitteny, A.F , Fouque, B , Teoule, R and Bloch, B. (1990). Dopamine receptor gene expression by enkephalin neurons in rat forebrain. *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.* 87: 230-234.
- LeMoine, C., Normand, E. and Bloch, B. (1991). Phenotypical characterization of the rat striatal neurons expressing the D<sub>1</sub> dopamine receptor gene. *Proc. Natn. Aca. Sci. U.S.A.* 88: 4205-4209.
- Lewy, F.H. (1912) *Handbuch der Neurologie*. Springer, Berlin. P. 920 En: Garcia-Hernández, F. y Massieu-Trigo, L. (1993). Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: Avances teoricos y experimentales. *Ciencia*. 44: 455-472.
- Lloyd, K.G., Davidson, L. and Hornykiewicks, O. (1975) The neurochemistry of Parkinson's disease: effects of L-DOPA therapy. *J Pharmacol.* 195: 453-464.
- Li, S., Sivam, S., McGinty, J., Jiang, H., Douglass, J., Calavetta, L. y Hong, J (1988) Regulation of the metabolism of striatal dynorphin by dopaminergic system. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 246. 403-408.

---M---

- Marsden, C.D. (1992) Dopamine and basal ganglia disorders in humans seminars in *The Neurosciences*. 4(2): 171-178.
- Martinez-Serrano, A. y Björklund, A. (1997). Immortalized neuronal progenitor cells for CNS gene transfer and repair. *Trends Neurosci.* 20: 530-538.
- McNeil, T.H., Brown, S.A., Rafols, J.A. and Shoulson, I. (1988). Atrophy of medium spiny I striatal dendrites in advances Parkinson's disease. *Brain Research*. 445: 148-152
- Martone, M.E., Armstrong, D.M., Young, S.J y Groves, P.M. (1993) Cholinergic neurons are distributed preferentially in areas rich in substance P-like immunoreactivity in the caudate nucleus of the adult cat. *Neurosci* 56,3; 567-579.
- Mensah, P.L. (1980) Distribution of the largest neurons in mouse caudate-putamen nucleus: Its position in large cell-medium cell clusters. *Exp. Brain Res.* 3: 267-271.
- Miller, R. y Beninger, R.J. (1991) On the interpretation of asymmetries of posture and locomotion produced with dopamine agonists in animals with unilateral depletion of striatal dopamine. *Progress in Neurobiology*. 36, 229-256.

- Miranda, A.F., Sutton, M.A., Beninger, R.J., Jhamandas, K. and Boegman, R.J. (1999) Quinolinic acid lesion of the nigrostriatal pathway: effects on the turning behavior and protection by elevation of endogenous kynurenic acid in *rattus norvegicus*. *Neurosci. Lett.* 262: 81-84.
- Missale, C., Nash, R.S., Robinson, W.S., Jaber, M. and Caron, G.M. (1998). Dopamine receptors: From structure to function. *Physiological Reviews.* 78 (1): 189-225.
- Molina-Arjona, J.A., de Bustos, F., Benito-León, J., Jiménez-Jiménez, F.J., Rodríguez, J., Trincado, R., Porta-Etessan, J., Vega, S. y Bermejo, F. (1999). Factores prooxidantes y antioxidantes séricos y riesgo para enfermedad de Parkinson: estudio poblacional. *Rev Neurol* 29 (1): 12-15
- Moore, R.Y., Bhatnagar, R.K. y Heller, A. (1971) Anatomical and chemical studies of a nigro-neostriatal projection in the cat. *Brain Res.* 30: 119-135.
- Muralikrishnan, D. y Mohanakumar, P.K. (1998). Neuroprotection by Bromocriptine against 1-methyl-4,phenyl-1,2,3,6,-tetrahydropyridine neurotoxicity in mice. *J FASEB* Vol.12: 905-912.

---N---

- Nauta, W.J.H. y Domesick, U.B. (1978) Crossroads of limbic and striatal circuitry: hypothalamio-nigral connections. En: Livingstone, K.E. y Hornykiewicz, O. (Eds.) *Limbic Mechanisms, The Continuing Evolution of the Limbic System Concept.* New York. Plenum. p 75-93
- Nishi, K, Kondo, T. y Narabayashi, H. (1989). Difference in recovery patterns of striatal dopamine contents, tyrosine hydroxylase activity and total bipterin contents after 1-methyl-4,phenyl-1,2,3,6,-tetrahydropyridine (MPTP) administration. A comparison of young and older mice. *Brain Res.* 489: 157-162.
- Nishino, H., Hashitani, T., Kumazaki, M., Sato, H., Furuyama, F., Isobe, Y., Watari, N., Kanai, M. y Shiosaka. (1990). Long-term survival of grafted cells, dopamine synthesis/release, synaptic connections and functional recovery after transplantation of fetal nigral cells in rats with unilateral 6-OHDA lesions in the nigrostriatal dopamine pathway. *Brain Res.* 534:83-93.



---O---

- Ogawa, N., Tanaka, K-i, Asanuma, M., Kawai, M., Masumizu, T., Kohno, M. and Mori, A (1994). Bromocriptine protects against 6-hydroxydopamine and scavenges hydroxyl free radicals in vitro. *Brain Res.* 657: 207-213.
- Ogawa, N. (1998). Early introduction of dopamine agonists in the long-term treatment of Parkinson's disease. *Neurology.* 51 (suppl2): S13-S20.
- O'Dowd, B.F. (1993). Structures of dopamine receptors. *J. Neurochem.* 60: 804-816.
- Olanow, C A. (1993) A scientific rationale for protective therapy in Parkinson's disease. *J. Neural. Transm.* 91: 161-180.
- Otero-Siliceo, E., Abascal-Arias, M R., Alanis-Quiroga, M., et. al. (1996) Parkinson enfoque al futuro. Fondo de cultura Económica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Cap.I, III, XII, XIII, XV, XVI, XVII y XVIII.

---P---

- Parent, A. (1990). Extrinsic connections of the basal ganglia. *TINS* 13, 7:254-258.
- Parent, A. y Hazrati, L.N. (1993) Anatomical aspects of information processing in primate basal ganglia. *TINS.* 16,3, 111-116.
- Parent, A and Hazrati, L-N. (1995) Functional anatomy of the basal ganglia I The cortical-basal ganglia-Thalamo-cortical loop. *Brain Res. Rev.* 20. 91-127.
- Parkinson, J. (1817). An essay on the shaking palsy. Neely and Jones (Eds.) Sherwood, London. pp 19-27
- Paxinos, G. and Watson, C. (1986). The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd Edn Academic Press New York
- Pery, T L., Goidin, D.V. y Hansen, S. (1982). Parkinson's disease: a disorder due to nigral glutathione deficiency? *Neurosci. Lett.* 33: 305-310.
- Pickei, V.M., Beckley, S.C., Joh, T.H, y Reis, D.J. (1981) Ultrastructural immunocytochemical localization of tyrosine hydroxylase in the neostriatum. *Brain Res* 225 (1981) 373-385.

- Pickel, V.M., Chan, J. And Sesack, S.R. (1992) Cellular basis for interactions between catecholaminergic afferents and neurons containing leu-enkephalin-like, immunoreactivity in rat caudate-putamen nuclei. *Journal of Neurosci. Res.* 31: 212-230.
- Poli, G , Cardenas, E. and Packer, L. (2000). Free radicals in brain Pathophysiology. Chap: 13, 23. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York-Basel.
- Poulsen, K.T., Armanini, M.P , Klein, R.D., Hynes, M.A , Phillips, H S. y Rosenthal, A (1994). TGFB2 are potent survival factors for midbrain dopaminergic neurons *Neuron* 13:1245-1252.
- Price, D.L , Whitehouse, P.J. and Struble, R.G. (1986). Celular pathology in Alzheimer´s and Parkinson´s diseases. *TINS* 9 (1): 19-33.

---Q---

- Qin, Z.H., Chen, J.F. y Weiss, B (1994) Lesions of mouse striatum induced by 6-hydroxydopamine differentially alter the density, rate of synthesis, and level of gene expression of D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> dopamine receptors. *J. Neurochem* Raven Press, N.Y Pp. 411-420.

---R---

- Radja, F. , El Masnari, M., Soghomonian, J.J , Dewar, K M., Ferron, A., Reader, T.A. y Descarries, L. (1993). Changes of D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors in adult rat neostriatum after neonatal dopamine denervation: Quantitative data from ligand binding, in situ hybridization and iontophoresis. *Neurosci.* 57(3): 635-648.
- Ramaker, C., Van de Beeck, J T.W., Finken, J.J.M. and Van Hilten, J.J.B. (2000). The efficacy and safety of adjunct Bromocriptine therapy for levodopa-induced motor complications: A systemic review. *Movement Disorders.* 15 (1). 54-64.
- Reid, M.S., Herrera-Marschitz, M., Hökfelt, T., Lindfors, N., Persson, H y Ungerstedt, U. (1990) Striatonigral GABA, dinorphin, substance P and neurokinin A modulation of nigrostriatal dopamine release: evidence for direct mechanisms. *Exp. Brain Res.* 82: 293-325.

- Reiner, A y Anderson, K.D. (1990). The patterns of neurotransmitter and neuropeptide co-occurrence among striatal projection neurons. conclusions based on recent findings Brain Res. Rev. 15: 251-265.
- Reul, J and deKloet, R. (1985) Two receptor system for corticosterone in rat brain microdistribution and differential occupation. Endocrinology, 117 2505-2511
- Riederer, P., Sofic, E.W , Rausch, D., Schmidt, B , Reynolds, G.P., Jellinger, K., Youdim, M.B.H. (1989) Transition metals, ferritin, glutathione, and ascorbic acid in Parkinsonian brains. J. Neurochem. 52.515-520.
- Rinwald, E. and Vigouret, J.M (1988). Parkinsonian syndromes and Parkinson's disease Sandoz. pp. 1-27.
- Robbins, J.H , Otsuka, F and Tarane, R.E. (1985). Parkinson's disease and Alzheimer's disease. Hypersensitivity to X-ray in cultures cell lines. J. Neurol Neurosurg Psychiatry 48: 916-923.
- Robbins, T W. y Everitt, B J. (1992) Functions of dopamine in the dorsal and ventral striatum seminars in The Neuroscience, 4(2): 119-128.
- Roberts, R.C. and DiFiglia, M (1990). Evidence for synaptic proliferation, reorganization and growth in the excitotoxic lesioned adult rat caudate nucleus. Exp. Neurol. 107. 1-10.
- Rodriguez, M.C . Obeso, J A. and Olanow, C.W (1998). Subthalamic nucleus-mediated excitotoxicity in Parkinson's disease: a target for neuroprotection. Ann. Neurol. 44 (1): S175-S188.
- Rutherford, A , García-Muñoz, M. y Arbuthnott, G W. (1988) An after hyperpolarization recorded in striatal cells "in vitro". effect of dopamine administration. Exp. Brain Res., 71 399-405.

---S---

- Sato, F , Parent, M., Levesque, M. and Parent, A. (2000). Axonal Branching Pattern of Neurons of the Subthalamic Nucleus in Primates The Journal of Comparative Neurology 424: 142-152.

- Sawada, H., Masakasu, I., Kihara, T., Urushitani, M., Akaike, A., Kimura, J. and Shimohama, S. (1998) Dopamine D2-type agonists protect mesencephalic neurons from glutamate neurotoxicity: Mechanisms of neuroprotective treatment against oxidative stress. *Annals of Neurology*. Vol. 44 (1): 110-119.
- Scatton, B. (1982). Effect of dopamine agonists and neuroleptic agents on striatal acetylcholine transmission in the rat: evidence against dopamine receptor multiplicity. *J Pharmacol. Exp. Ther* 220: 197-202. En: Di Chiara G. y Morelli, M. Dopamine-Acetylcholine-Glutamate interactions in the striatum. A working hypothesis. En: Narabayashi, H., Nagatsu, T., Yanagisawa, N. y Mizuno, Y. (Eds.) *Advances in Neurology*. Vol. 60. Raven Press, N.Y.
- Scatton, B. (1987) Excitatory amino acid and GABA influence on rat striatal transmission. En: Sandler, M., Feuerstein, C. y Scatton, B. (Eds.) *Neurotransmitter interactions in the basal ganglia*. Raven Press, N.Y. p. 121-131
- Scheel-Kruger, J. (1986) Dopamine-GABA interactions: evidence that GABA transmits, modulates and mediates dopaminergic functions in the basal ganglia and the limbic system. *Acta Neur. Scand. Supl.* 107, 73.
- Schneider, J.S. (1987) Functions of the basal ganglia: An overview. En: Lidsky, T.I. (Ed.) *Basal Ganglia and behavior. Sensory aspects of motor functioning*. Hans Huber, Publishers. NY.
- Schmit, R., Ingvar, M., Lindvall, O., Stenevi, U. y Bjorklund, A. (1982). Functional activity of substantia nigra grafts reinnervating striatum: Neurotransmitter metabolism and [ $^{14}C$ ]-deoxy-D-glucose autoradiography. *J. Neurochem.* 38:737-748.
- Schwab, R.S. (1960). Progression and prognosis in Parkinson's disease. *Journal of Nervous and Mental Disease* 130: 556-556.
- Schwab, R.S., England, A.C. Jr y Poskanzer, D.C. (1969). Amantidine in the treatment of Parkinson's disease. *JAMA* 208: 1168-1170.
- See, R.E., Chapman, M.A., and Menshul, C.K. (1992). Comparison of chronic intermittent haloperidol and raclopride effects on striatal dopamine release and synaptic ultrastructure in rats. *Synapse*, 12. 147-154.

- Seitelberg, F and Lassmann, H (1990). Patología del citoesqueleto en la enfermedad de Alzheimer y trastornos relacionados con esta enfermedad. *Gac. Med. Méx.* 126 (5): 361-373.
- Selemon, L.D. y Goldman-Rakic, P.S. (1985) Longitudinal topography and interdigitation of corticostriatal projections in the rhesus monkey. *J. Neurosci.* 5: 776-794.
- Shapira, A.H.V., Cooper, J.M., Dexter, D. (1990) Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 54: 823-827.
- Sheng, J.G., Shirabe, S., Nishiyama, N. y Schwartz, J.P. (1993) Alterations in striatal glial fibrillary acid protein expression in response to 6-hydroxydopamine-induced denervation. *Exp Brain Res.* 95: 450-456
- Shink, E. and Smith Y (1995) Differential synaptic innervation of neurons in the internal and external segments of the globus pallidus by the GABA- and glutamate-containing terminals in the squirrel monkey. *J. comp. Neurol.* 358: 119-141.
- Shink, E., Bevan, M.D., Bolam, J.P. and Smith, Y. (1996). The subthalamic nucleus and the external pallidum: two tightly interconnected structures that control the output of the basal ganglia in the monkeys. *Neuroscience.* 73: 335-357.
- Shoulson, I (1998) Where do we stand on neuroprotection? Where do we go from here?. *Movement Disorders.* 13 (suppl 1): 46-48.
- Sidhu, A. (1998). Coupling of D<sub>1</sub> and D<sub>5</sub> dopamine receptors to multiple G proteins. *Molecular Neurobiology* 16(2) 125-134.
- Sivam, S.P., Breese, J.R., Krause, J.E., Napier, T.C., Mueller, R.A y Hong, J.S (1987) Neonatal and adult 6-hydroxydopamine-induced differentially alter tachykinin and enkephalin gene expression. *J Neurochem.* 49: 1623-1633
- Smith, A.D., and Bolam, J.P. (1990) The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurons. *TINS*, 13(7): 259-265
- Smith, J.A.M., Leslie, F.M., Broide, R.S. y Loughlin, S.E. (1993) Long-term changes in striatal opioid systems after 6-hydroxydopamine lesion of rat substantia nigra. *Neurosci* 55(4): 935-951.
- Smith, Y, Bevan, M.D., Shink, E. and Bolam, J.P. (1998). Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience* 86 (2): 353-387.

- Sogawa, A.C., Miyazaki, I., Sogawa, N., Asanuma, M., Ogawa, N. and Furuta, H. (2000). Antioxidants protect against dopamine-induced metallothionein-III (GIF) mRNA expression in mouse glial cell line (VR-2g). *Brain Research* 853: 310-316.
- Somogyi, P., Bolam, J.P. and Smith, A.D. (1981) Monosynaptic cortical input and local axon collaterals of identified striatonigral neurons. A light and electron microscopic study using the Golgi-Peroxidase transport degeneration procedure. *J. Comp. Neurol.* 195: 567-584.
- Sonsalla, P.K., Giovanni, A., Sieber, B.A., Donne, K.D. y Manzino, L. (1992) Characteristic of dopaminergic neurotoxicity produced by MPTP and methamphetamine. *Ann. NYAS* 648: 229- 238. En: Alexi, T., Borlongan, C.V., Faull, R.L.M., Williams, C.E., Clark, R.G., Gluckman, P.D. and Hughes, P.E. (2000) Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's diseases. *Progress in Neurobiology* 60: 409-470.
- Soto-Otero R., Méndez-Álvarez, E., Hermida-Ameijeiras, Á., Muñoz-Patiño, A.M. and Labandeira-García, J.L. (2000). Autoxidation and neurotoxicity of 6-Hydroxydopamine in the presence of some antioxidants: Potential implication in relation to the pathogenesis of Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 74: 1605-1612
- Stephans, S.E., Whittingham, T.S., Douglas, A.J., Lust, W.D. y Yamamoto, B.T. (1998). Substrates of energy metabolism attenuate methamphetamine-induced neurotoxicity in striatum. *J. Neurochem.* 71: 613-621
- Stoof, J.C., Drukarch, B., DeBoer, P., Westerink, B.H.C. y Groenewegen, H.J. (1992) Regulation of the activity of striatal cholinergic neurons by dopamine. *Neurosci* 47 (4) 755-770.
- Sugamori, K.S., Demchyshyn, L.L., Chung, M. and Niznik, H.B. (1994). D<sub>1A</sub>, D<sub>1B</sub> and D<sub>1C</sub> dopamine receptors from *Xenopus laevis*. *Proc. Natn. Acad. Sci. USA.* 91.536-540
- Sziraki, I., Mohanakumar, K.P., Rahuala, P., Kim, H.G., Yeh, K.J. y Chiueh, C.C. (1998) Manganese: a transition metal protects nigrostriatal neurons from oxidative stress in the iron-induced animal model of Parkinsonism. *Neurosci.* 85:1101-1111

---T---

- Takada, M., Itoh, K., Sugimoto, T y Mizuno, N (1985) Topographical projections from the thalamus to the putamen in the cat. *Neurosci. Lett.* 54: 207-212.
- Takagi, H., Somogyi, P., Somogyi, J. y Smith, A.D. (1983) Fine structural studies on a type of somatostatin-immunoreactive neuron and its synaptic connections in the rat neostriatum: A correlated light and electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.* 214: 1-16.
- Tanji, J., Taniguchi, K. y Saga, T. (1980) Supplementary motor area neuronal response to motor instructions. *J. Neurophysiol.* 43: 60-68.
- Tanaka, D. (1980). Development of spiny and aspiny neurons in the caudate nucleus of the dog during the first postnatal month. *J. Comp Neurol.* 192: 247-263.
- Tanaka, D., Gorska, T. y Dutkiewicz, K. (1980) Corticostriate projection patterns and synaptic morphology in the puppy caudate nucleus. *Exp. Neur.* 70 98-108
- Tanaka, M. Sotomatsu, A., Yoshida, T. and Hirai, S (1995) Inhibitory effects of bromocriptine on phospholipid peroxidation induced by L-dopa and iron. *Neurosci. Letter.* 183 116-119.
- Tashiro, Y., Sugimoto, T., Hattori, T., Uemura, Y., Nagatsu, I., Kikuchi, H. y Mizuno, N (1989) Tyrosine hydroxylase-like immunoreactive neurons in the striatum of the rat *Neurosci. Lett.* 97: 6-10.
- Tatton, N.A. y Kish, S.J. (1997). In situ detection of apoptotic nuclei in the substantia nigra compacta of 1-methyl-4,phenyl-1,2,3,6,-tetrahydropyridine-treated mice using terminal deoxynucleotidyltransferase labelling and acridine orange staining. *Neurosci.* 77: 1037-1048
- Thach, W.T (1978) Discharge of cortical neurons related to two maintained postures and two prompt movements. *J. Neurophysiol.* 41: 654-676.
- Tolosa, E., Martí, M.J , Valldeoriola, F. y Molinuevo, J.L. (1998). History of levodopa and dopamine agonists in Parkinson's disease treatment. *Neurology.* 50(Suppl 6):S2-S10
- Totterdell, S . Bolam, J.P. and Smith, A.D. (1984). Characterization of pallidonigral neurons in the rat by a combination of Golgi-impregnation and retrograde transport of horseradish peroxidase: their monosynaptic input from the neostriatum *J. Neurocytol.* 13 593-616.

- Tretiakoff, C. (These de Paris 1919). En: Garcia-Hernández, F. y Massieu-Trigo, L. (1993). Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: Avances teoricos y experimentales Ciencia. 44: 455-472.
- Tseng, J.L., Baetge, E.E., Zurn, A.D., Aebischer, P. (1997). GDNF reduced drug-induced rotational behavior after medial forebrain bundle transections by a mechanism not involving striatal dopamine. J. Neurosci. 17: 325-333.
- Turski, L., Bressler, K., Retting, K J., Loschmann, P A. and Wachtel, H. (1991). Protection of substantia nigra from MPP<sup>+</sup> neurotoxicity by N-Methyl-D-aspartate antagonists Nature. 349: 414-418.

---U---

- Ungerstedt, U. (1968) 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoaminergic neurons. Eur. J. Pharmacol. 5, 107-110.
- Ungerstedt, U y Arbuthnott, G.W. (1970) Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. Brain Res. 24. 485-493.
- Ungerstedt, U. (1971) Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain Acta Physiol. Scand. sup. 367, 1-48.
- Ungerstedt U. (1971b) Dipsia and Aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigrostriatal dopamine system Acta Physiol. Scand. sup 367, 95-121.
- Ungerstedt, U. (1971c) Striatal dopamine release after amphetamine or nerve degeneration revealed birotational behavior. Acta Physiol. Scand. sup 367, 49-93

---V---

- Varon, J and Jacobs, M.B. (1991). Treating the progressive stages of Parkinson's disease Postgrad-Med. 90(1): 63-66.
- Velasco, F (1986). Enfermedad de Parkinson. Arch. Invest Med. México. 10: 108-117

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA



- Venero, J.L., Revuelta, M., Cano, J and Machado, A (1997) Time course changes in the dopaminergic nigrostriatal system following transection of the medial forebrain bundle: detection of oxidatively modified proteins in substantia nigra. *J. Neurochem.* 68: 2458-2468.
- Vernier, P., Julien, J.F., Rataboul, P., Fourrier, O., Feuerstein, C. y Mallet, J. (1988) Similar time course changes in striatal levels of glutamic acid decarboxylase and proenkephalin mRNA following dopaminergic deafferentation in the rat. *J Neurochem* 51 1375-1380.
- Voorn, P. y Buijs, R.M. (1987) Ultrastructural demonstration of dopamine in the central nervous system. En, Steinbusch, H.W M. (Ed.) *Monoaminergic neurons: Light microscopy and ultrastructure.* John Wiley & Sons.
- Voorn, P , Roest, J. y Jroenewegen, H.J. (1987) Increase of enkephalin and decrease of substance P immunoreactivity in the dorsal and ventral striatum of the rat after midbrain 6-hydroxydopamine lesions. *Brain Res.* 412: 391-396.

---W---

- Waddington, J.L and O'Boyle, K.M (1987). The D<sub>1</sub> dopamine receptor and the search for its functional role. from neurochemistry to behavior. *Rev. neurosci.* 1 157-184.
- Waters, C.M., Peck, R., Rossor, M., Reynolds, G.P. and Hunt, S.P. (1988) Immunocytochemical studies on the basal ganglia and substantia nigra in Parkinson's disease and Huntington's chorea. *Neurosci.* 25: (2): 419-438.
- Weber, E , Evans, C.J. and Barchas, J.D. (1982). Predominance of the amino-terminal octapeptide fragment of dynorphin in rat brain regions. *Nature* 299: 77-79.
- Weiner, J.W. (1999). The initial treatment of Parkinson's disease should begin with levodopa. *Movement Disorders.* 14 (5): 716-724
- White, L.E.; Hodges, H.D., Carnes, K.M., Price, J.L y Dubinsky, J.M. (1994) Colocalization of excitatory and inhibitory neurotransmitter markers in striatal projection neurons in the rat *The Jour. of Comp. Neuroi* 339, 328-340.

- Wichmann, T. y DeLong, M.R. (1993) Pathophysiology of Parkinsonian motor abnormalities. En: Narabayashi, H., Nagatsu, T., Yanagisawa, N. y Mizuno, Y. (Eds) *Advances in Neurology*, Vol. 60 Raven Press, Ltd New York.
- Wilson, C.J. (1990). Basal ganglia. En: Gordon M Shepard (Ed.). *The synaptic organization of the brain*. Fourth Edition. Oxford University Press New York. pp. 329-375
- Wilson, J.C. and Groves. P.M. (1980). Fine structure and synaptic connections of common spiny neuron of the rat neostriatum: A study demonstrating a monosynaptic striatal input to identified nigroectal neurons using a combined degeneration and HRP procedure. *Neurosci.* 14 (4): 991-1010.
- Wilson, J.C. (1998). The basal ganglia. In: Gordon M Shepard (Ed.). *The synaptic organization of the brain*. Fourth Edition. Oxford University Press. New York pp. 329-375
- Winn, P. (1991). Excitotoxins as tools for producing brain lesions. En: Conn, P.M (Comp) *Lesions and transplants. Methods in neurosciences*. Vol. 7. Academic Press, Inc
- Wolters, CH.E., Tissingh, G., Bergmans, L.M. y Kuiper, M (1995). Dopamine agonists in Parkinson's disease. *Neurology (Suppl 3): S28-S34.*

---Y---

- Yamamoto, M (1998). Do dopamine agonists provide neuroprotection *Neurology*. 51 (suppl 2): S10-S12.
- Yahr, M.D., Mendoza, M.R., Moros, D. and Gergmann, K.J (1983). Treatment of Parkinson's disease in early and late phase. Use of pharmacological agents with special references to deprenyl (selegiline). *Acta Neurol. Scand. Suppl.* 95:95-102.
- Yoshikawa, T., Manamiyama, Y., Naito, Y. and Kondo, M. (1994). Antioxidant properties of Bromocriptine a dopamine agonist. *J. Of Neurochemistry*. 62: 1034-1038.
- Yurek, D M. and Sladek, J.R. (1990). Dopamine cell replacemet. Parkinson's disease. *Ann Rev Neurosci.* 13: 415-440

---Z---

- Zecca, L , Costi, P. Mecacci, C., Ito, S., Terreni, M and Sonnino, S (2000). Interaction of human substantia nigra neuromelanin with lipids and peptides. *J Neurochem* 74 1758-1765.
- Zigmond, M.J., Abercrombie, E.D., Berger, T.W., Grace, A A. y Stricker, E.M. (1990) Compensations after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications. *TINS* 13. 7: 290-295

## APÉNDICE 1

### INMUNOCITOQUÍMICA PARA TIROXINA HIDROXILASA PARA MICROSCOPIA DE LUZ.

- 1.- Una vez fijado el cerebro se toma el mesencéfalo ventral y se hacen cortes de 50 micras en el vibratómo y se ponen en buffer PBS
- 2.- Se pasan los cortes por 3 veces en buffer PBS durante 10 minutos cada vez, con agitación.
- 3.- Se pasan los cortes 3 veces en buffer TRIS durante 10 minutos cada vez, con agitación.
- 4.- Se preparan 5 mililitros de buffer TRIS con 3 % de SUERO NORMAL DE CABRA y 0.3 % de Tritón, se sumergen los cortes 1 hora con agitación
- 5.- Se incuba el tejido en una alícuota (1:1) de anticuerpo primario ANTI-TH en buffer TRIS (1.1000) y 1 % de SUERO NORMAL DE CABRA por tres días a 4 grados centígrados. Utilizar camara húmeda.
- 6.- Se lavan los cortes tres veces en buffer TRIS con 1 % de SUERO NORMAL DE CABRA durante 10 minutos con agitación.
- 7.- Se incuba el tejido por una hora a temperatura ambiente en el anticuerpo secundario ANTI-IGg de CONEJO (1:1000), en buffer TRIS con 1 % de SUERO NORMAL DE CABRA, con agitación.
- 8.- Lavar tres veces por diez minutos en buffer TRIS con 1 % de SUERO NORMAL DE CABRA, con agitación.
- 9.- Incubar el tejido en ABIDINA-BIOTINA (1:200) por una hora a temperatura ambiente en buffer TRIS con agitación. En 5 mililitros de TRIS se agrega una gota de A y una gota de B.
- 10.- Lavar tres veces por diez minutos en buffer TRIS con agitación
- 11.- Incubar el tejido en 3-3 DIAMINOBENZIDINA (DAB) al 0.05 % y 0.003 % de agua oxigenada.

Preparación: 5 mg de DAB se disuelven en 10 ml de buffer TRIS, agitar muy bien, cuando este disuelta la DAB agregar 100  $\mu$ l de agua oxigenada Incubar

los cortes hasta que se tornen un poco oscuros (aprox 5 minutos)

**IMPORTANTE:** USAR BATA, GUANTES Y CUBREBOCA (Todo el material que tenga contacto con la diaminobenzidina se debe sumergir en agua con cloro)

12.- Lavar tres veces por 10 minutos el tejido en buffer TRIS

13.- Se montan los cortes en portaobjetos previamente gelatinizados y se dejan secar un día.

#### DESHIDRATACIÓN.

14.- Se prepara una batería y se pasan los portaobjetos con el tejido durante un minuto en cada vaso de Coplin.

Alcohol 70 % 2 recipientes

Alcohol 96 % 2 recipientes

Alcohol 100 % 2 recipientes

Xilol 2 recipientes

15 - Se pone resina y se coloca el cubreobjetos sin dejar burbujas