

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO**

FES-IZTACALA

**“EFECTO DE LA L-DOPA EN EL ESTRIADO Y
SUSTANCIA NIGRA DE RATA LESIONADA CON 6-
OHDA: MODELO ANIMAL DE LA ENFERMEDAD DE
PARKINSON”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A:

ANA LUISA GUTIÉRREZ VALDEZ

DIRECTOR DE TESIS: DRA. MARIA ROSA AVILA COSTA

LOS REYES IZTACALA , EDO MEX

2004



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.

El esqueleto de la ciencia son los hechos, pero los músculos y los nervios son el significado que se les confiere, y el alma de la ciencia son las ideas.

Ruy Pérez Tamayo

La ciencia tiene una característica Maravillosa, y es que aprende de sus errores, que utiliza sus equivocaciones para reexaminar los problemas y volver a intentar resolverlos, cada vez por nuevos caminos.

Ruy Pérez Tamayo

AGRADECIMIENTOS

A DIOS POR DARME LA FUERZA DE SEGUIR ADELANTE

A MI PAPA CON MUCHO AMOR, AGRADECIMIENTO Y ADMIRACIÓN PORQUE LA CULMINACIÓN DE ESTE TRABAJO ES PARTE DE TI.... LO LOGRAMOS!!!

A ROCÍO POR TODO SU CARIÑO Y APOYO CUANDO MAS LO NECESITE, QUE DONDE QUIERA QUE ESTE SIEMPRE ESTARÁ EN MI CORAZÓN.

A MARÍA ROSA POR TODO LO QUE ME HAS ENSEÑADO, POR SIEMPRE ESTAR AHÍ EN EL MOMENTO MÁS PRECISO, POR ENSEÑARME QUE CUANDO DESEAS ALGO NADA ES IMPOSIBLE, POR TU CONFIANZA..... TENGO TANTO QUE AGRADECERTE DE VERDAD MIL GRACIAS!!!

A TERE FORTOUL, PATY MUSSALI Y LAURIS POR TODO SU APOYO.... GRACIAS!!!

A MIS HERMANOS LUIS, FABIOLA Y ANGÉLICA PORQUE JUNTOS APRENDIMOS A SALIR ADELANTE, POR SER MIS MEJORES AMIGOS Y CONFIDENTES. LOS QUIERO MUCHÍSIMO.

A MIS NIÑOS ARELY, AZAEL Y CESAR , PORQUE CON TAN SOLO UNA SONRISA ME ALEGRA LA VIDA.

A ERIKA POR TU AMISTAD Y AYUDA INCONDICIONAL

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS DEL LABORATORIO PATY, CHUCHO, ERIK, PABLO, LICHITA Y VERO GRACIAS POR SU APOYO!!!

A ENRIQUE POR SUS ENSEÑANZAS Y PACIENCIA.

A LUIGI POR TODA SU AYUDA Y COMPRENSIÓN GRACIAS!!!

A MIS AMIGOS VERO, JULIETA, ELSA, FRANCISCO, LUPE, ALEJANDRO, AURO, GALLO, ARTURO, LUIGI, BECA, CESAR, ERI, ADRIANA, MARCE, LILIANA, JASSO, PEDRO, ARACELI, ISRAEL Y TOÑO. POR SU APOYO, POR TODOS ESOS MARAVILLOSOS MOMENTOS QUE COMPARTIMOS JUNTOS. LOS QUIERO MUCHO.

FINALMENTE QUIERO AGRADECER A LA DRA. MARIA ROSA AVILA, DRA. LAURA COLÍN, DRA. BERTHA SEGURA, M EN C. ENRIQUE MONTIEL Y BIOL.. DANIEL GARCÍA, POR SUS VALIOSAS APORTACIONES PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

INDICE.

PAG

1.- INTRODUCCIÓN	8
2.- GANGLIOS BASALES	12
2.1 Anatomía de los ganglios basales.....	12
2.2 Organización funcional.....	13
2.3 Interacción entre neurotransmisores.....	15
2.4 Población celular.....	19
3.- ORGANIZACIÓN SINÁPTICA	21
3.1 Espinas dendríticas.....	21
4.- MODELOS EXPERIMENTALES DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON	24
4.1 Consecuencia de la depleción dopaminérgica	25
5.- TRATAMIENTOS	26
6.- JUSTIFICACIÓN	30
7.- OBJETIVO GENERAL	31
7.1 Objetivos particulares	31
8.- MÉTODO	31
9.- RESULTADOS	33
9.1 Diámetro del botón presináptico	33
9.2 Estructura postsináptica.....	36
9.3 Número de sinapsis perforadas.....	36
9.4 Número de espinas dendríticas	40
9.5 Número de neuronas inmunoreactivas a TH.....	40
10.- DISCUSIÓN	45
11.- CONCLUSIÓN	49
12.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
13.- APÉNDICE I	66

RESUMEN

Para el estudio de la enfermedad de Parkinson se han utilizado diversos modelos experimentales, entre ellos se encuentra la 6-OHDA, la cual es una neurotoxina que al ser inyectada en el haz medial del cerebro anterior, destruye las neuronas dopaminérgicas de la SNc, decrementando así las concentraciones de dopamina en el estriado. En nuestro laboratorio se ha encontrado que en pacientes con enfermedad de Parkinson y animales lesionados con 6-OHDA el patrón de degeneración a nivel ultraestructural es muy similar en ambos casos. Debido a que la L-DOPA es el fármaco más ampliamente utilizado en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y se ha reportado que el tratamiento a largo plazo trae como consecuencia fenómenos adversos, por la que fue de nuestro interés analizar el efecto de éste fármaco sobre la citología del estriado y la sustancia nigra, ya que hasta el momento no hay reportes citológicos que puedan explicar los posibles efectos adversos que produce. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto de la L-DOPA en la citología del estriado y sustancia nigra de rata lesionada unilateralmente con 6-OHDA.

Para lo cual se utilizaron 18 ratas macho, 12 se lesionaron con 8 μ g de 6-OHDA. El grupo control (n=6) fue inyectado con 4 μ l de solución vehículo –salina ácido y ascórbico-. A las 48 horas se evaluó la conducta de giro con apomorfina (0.25 mg/Kg i.p.) y solo se utilizaron aquellos animales lesionados con 6-OHDA que presentaron 200 giros o mas en 30 minutos. 6 ratas fueron tratadas oralmente con 15 mg/Kg de L-DOPA durante 30 días, 6 ratas lesionadas sin tratamiento fueron mantenidas durante el mismo tiempo. Al término del tratamiento las ratas fueron sacrificadas y se tomaron fragmentos del estriado ipsi y contralateral a la lesión. El análisis ultraestructural, consistió en la medición de 50 botones presinápticos. El análisis histológico se llevó a cabo con la técnica de Golgi en donde se contaron las espinas dendríticas en 5 dendritas secundarias de 10 neuronas espinosas medianas. Y finalmente por medio de la técnica de Inmunocitoquímica para TH se determinó el número de neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra. En nuestros resultados se pudo observar un comportamiento muy similar entre el grupo lesionado con 6-OHDA y el grupo tratado con L-DOPA ya que ambos mostraron un incremento en el diámetro de los botones sinápticos, aumento en las sinapsis perforadas, pérdida de espinas dendríticas, así como una disminución de neuronas dopaminérgicas. Cabe señalar que el lado contralateral, también presentó dichas alteraciones aunque no fueron tan drásticas. De acuerdo a esto podemos concluir que el tratamiento con L-DOPA no previno las alteraciones inducidas por la 6-OHDA, debido probablemente, a que la L-DOPA provoca estrés oxidativo.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es un desorden neurodegenerativo de los ganglios basales el cual es progresivo y deja al paciente incapacitado para ejecutar correctamente movimientos voluntarios, esta enfermedad se presenta en poco más de 50 personas por cada 100 mil habitantes mexicanos, sobre todo del sexo masculino (Secretaria de Salud 2001) Se observa aproximadamente en el 1% de la población por arriba de los 55 años de edad (Brailowsky y García, 1996). Esta enfermedad se caracteriza por una pérdida de neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra *pars compacta* (SNc) por lo que existe una disminución en los niveles de dopamina en el núcleo estriado, el cual juega un papel muy importante en la actividad motora (Luquin y Saldice. 1997).

Esta enfermedad fue descrita por primera vez por James Parkinson en 1817 a la que denominó parálisis agitante, la cual caracterizó como movimientos involuntarios con disminución de la fuerza muscular en segmentos inmóviles, con tendencia a la inclinación del tronco hacia delante, así como la marcha acelerada, sin alteración intelectual ni de los órganos de los sentidos (Otero-Siliceo 1996).

Esta enfermedad despertó gran expectación a causa de su larga evolución y de las características clínicas y epidemiológicas que empezaban a ser descritas. Así, Charcot en 1880 afirmó que la enfermedad de Parkinson (EP) era el quinto padecimiento más frecuente en pacientes con edades mayores de 40 a 50 años. Gowers en 1888, en una revisión de 80 pacientes informó que la edad de aparición de esta enfermedad era posterior a los 40 años de edad y asegura que los 52 años era la edad exacta del comienzo independientemente del sexo (Hoehn y Yahr, 1967). Por otra parte Purves Steward en 1898 observó que la enfermedad aparecía de los 22 a los 71 años (Alanis, 1996).

Se ha demostrado que la Sustancia nigra (SN) presenta una considerable pérdida neuronal y depigmentación en pacientes que presentaban la enfermedad de Parkinson (Tretiakoff, 1919). En 1966 Hornykiewickz 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 (Yurek y Sladek 1990; Gibb y Less, 1991).

Así la enfermedad de Parkinson se caracteriza por un problema clínico mayor, causado por la disminución de dopamina (DA) en el cuerpo estriado como resultado de una severa degeneración de la vía dopaminérgica. Por lo que se han establecido numerosas hipótesis para tratar de explicar el origen de esta enfermedad (Appel, 1981):

a) La enfermedad de Parkinson es el resultado de un proceso fortuito (Calne y Langston, 1983.). Esta hipótesis asume que la pérdida de neuronas, está en relación con el envejecimiento normal, el cual, puede ser acelerado con la participación acumulativa de daños repetidos de la vida diaria como virus, toxinas, trauma cerebrales. (Appel 1981).

b) La EP es el resultado de una falta de la hormona neurotrópica. Esta teoría postula que un factor de crecimiento específico dopaminérgico se sintetiza y almacena en un banco de células del estriado, y que existe una inhabilidad de estas células para proveer la hormona neurotrópica dopaminérgica requerida, causando de este modo un impedimento en las neuronas del sistema nervioso central (SNC) (Robbins et al 1985)

c) La EP es el resultado de defectos genéticos (Appel, 1981; Golbe et al. 1990). Esta hipótesis generalmente implica la presencia de factores a susceptibilidad hereditarios, (Elizan y Casals 1983; Langston et al. 1983). Por ejemplo: una de las alteraciones encontradas en pacientes que presentan la EP, es una mutación en el gen que codifica para la proteína α -sinuclina (Polymeoropoulos, et al. 1997), la cual esta relacionada con la promoción de apoptosis, supervivencia neuronal bajo condiciones de estrés oxidativo, (Olanow y Tatton 1999) y regulación de la transmisión dopaminérgica (Shimohama et al. 2003); pero no se ha encontrado relación genética familiar. También se propone que la alteración del complejo I de la cadena respiratoria que se encuentran en pacientes con EP podría ser de origen hereditario, aunque todavía no existe una clara evidencia (Jiménez-Jiménez et al. 1998)

d) Una de las hipótesis de mayor aceptación es la del estrés oxidativo ya que es una de las bases del mecanismo propuesto inicialmente para explicar la muerte de las neuronas en pacientes que presentan la EP, en donde se involucra la producción de radicales libres, los cuales son moléculas altamente reactivas que contienen un electrón no apareado, que está involucrado en sistemas químicos de toxicidad (MacCord, 1985). Los radicales libres al poseer un número de electrones no apareados en su órbita externa, reacciona fácilmente con las uniones insaturadas de los ácidos grasos de la membrana, desencadenando una serie de reacciones que causan peroxidación y a la vez mayor producción de radicales libres que afectan a las células (Freeman y Crapo, 1982); si estos radicales libres, 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 la célula de inactivarlos. De igual manera se pueden generar durante el metabolismo de la dopamina (Molina-Arjona et al. 1999), ya que la producción de radicales libres puede seguir dos caminos: la dopamina es metabolizada enzimáticamente por la MAO-B (Monoamina oxidasa-B) o bien por autooxidación de la misma dopamina, esto genera especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) como anión superóxido (O_2^-), y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), así como también especies reactivas de nitrógeno, como el peroxinitrito ($NOOO^-$) (Cassarino y Bannet, 1999), los cuales reaccionan con los metales como el Fe^{2+} produciendo radicales hidroxilo (OH^{\cdot}) induciendo citotoxicidad en la célula (Kienzl et al. 1999; Luo and Roth, 2000).

Se ha reportado que la concentración de enzimas que inactivan a los radicales libres, como el glutatión, glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa, se encuentran disminuidos dentro de la sustancia nigra de pacientes que presentan la enfermedad de Parkinson y en general en los ganglios basales, (Yamamoto, 1998; Jiménez-Jiménez, 1999), También se ha reportado que existe daño oxidativo en lípidos y proteínas (Jenner y Olanow. 1996), por lo que se ha establecido que el estrés oxidativo, parece que desempeña un papel altamente significativo en la neurodegeneración que ocurre en dicha enfermedad (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 éstas explica clara y completamente la cascada de eventos responsables de la iniciación de la EP.

Ahora bien las investigaciones de la enfermedad de Parkinson se ha enriquecido en los últimos 35 años, cuando además de las neuropatologías despertó el interés de los farmacólogos y neuroquímicos. Y es así cuando en 1976, Cotzias, Pavasiliou y Gellene, informaron por primera vez una mejoría significativa con el uso de levodopa (L-DOPA) en pacientes con EP (Duvoisin 1987).

Rajput et al. en su revisión que abarcó un periodo de 13 años (1974 a 1979), señalan que sus pacientes con Parkinson que recibieron L-DOPA, cerca de dos terceras partes de los pacientes tuvieron beneficios dentro de los primeros tres a seis meses de tratamiento, todos ellos después de un tiempo mostraban un claro deterioro acompañado de un constante incremento de complicaciones, tales como cambios en el umbral inducido por L-DOPA, así como movimientos involuntarios, mientras que los pacientes no tratados habían mostrado incremento en el riesgo de mortalidad, se había despertado la posibilidad de una mayor sobrevivencia desde hasta 14 años en pacientes que recibieron el tratamiento (Otero-Siliceo 1996). En un estudio realizado por McDowell y Cerdarbaum (1982) en un periodo de 18 años reportan la aparición de nuevos hallazgos, como las fluctuaciones presentadas por la terapia con L-DOPA; es decir presencia de disquinesias con regreso a los síntomas de la enfermedad de Parkinson. Asimismo realizaron una comparación entre los pacientes que no recibieron tratamiento y los que recibieron tratamiento con L-DOPA, y encontraron que efectivamente existe un aumento en la mortalidad de los pacientes con EP que no recibieron tratamiento, en comparación con los que si recibieron, aunque la causa de la muerte prácticamente es la misma, como son problemas secundarios como embolia pulmonar, infecciones respiratorias, neumonía y broncoaspiración.

Ahora bien, las estructuras cerebrales involucradas en la enfermedad de Parkinson son los ganglios basales, los cuales serán descritos a continuación.

GANGLIOS BASALES

El termino “ganglios basales” es usado para denominar a un número de núcleos relacionados anatómica 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 (Wilson 1998).

ANATOMÍA DE LOS GANGLIOS BASALES

Los ganglios basales son un grupo de núcleos localizados subcorticalmente, están íntimamente relacionados con el control del movimiento (Smith et al, 1998). Este grupo de núcleos incluyen: el núcleo caudado (NC), el putamen (P), el globo pálido (GP), núcleo subtalámico (NST) y la sustancia nigra (SN) (Gilmans y Winans, 1994) (Figura 1).

Dentro de los primates, el núcleo estriado (NE) se encuentra separado por la cápsula interna en dos regiones: una región dorsomedial (el núcleo caudado) y una región ventromedial (el núcleo putamen), a estos dos núcleos se les considera como la entrada hacia los ganglios basales, ambos núcleos se desarrollan de la misma estructura telencefálica, por lo que se componen del mismo tipo celular (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 entopedunculado (De Long y Georgopoulos, 1981). El NST se encuentra en la porción basal del diencefalo, en la unión con el mesencéfalo (Parent, 1990). La SN está en el mesencéfalo y presenta dos porciones una ventral llamada sustancia nigra *pars reticular* (SNr) que se semeja citológicamente al globo pálido y otra dorsal pigmentado llamada sustancia nigra *pars compacta* (SNc), compuesta por células dopaminérgicas cuyos cuerpos neuronales contienen neuromelanina (Carpenter, 1976). Este pigmento oscuro, el cual parece ser un polímero de la dopamina o sus metabolitos, da a la SNc su nombre, y el grado de pigmentación esta correlacionado con la concentración de dopamina, pero la función del pigmento es desconocida (Coté y Crutcher, 1991). El GPi y la SNr constituyen los principales núcleos de salida de los ganglios basales.

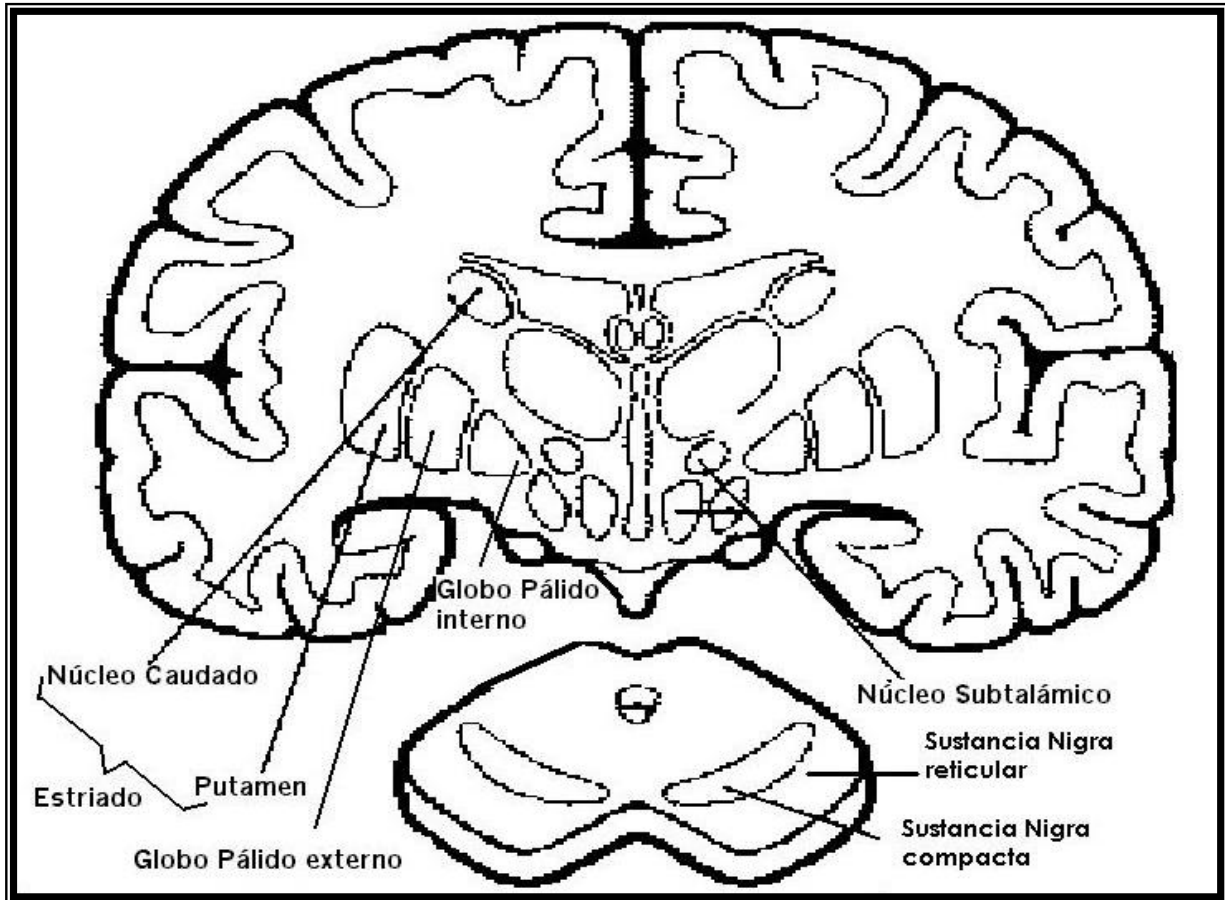


FIGURA 1. Esquema de los ganglios basales los cuales están íntimamente relacionados con el control del movimiento.

ORGANIZACIÓN FUNCIONAL

Los ganglios basales no solamente se limitan a aspectos sensoriales de programación de movimientos, si no que también se encuentran relacionados con aspectos de planeación de movimientos, selección y memoria motora (DeLong y Georgopolus, 1981; 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:

- a) Circuito motor, que proyecta a regiones corticales motoras precentrales tálamo, núcleos ventral lateral *pars oralis*, ventral anterior *pars parvocellularis* y ventral anterior *pars magnocellularis*.
- b) Circuito óculomotor, que proyecta a regiones corticales visuales frontal y suplementaria y tálamo.
- c) Circuito prefrontal, que proyecta a la corteza prefrontal dorsolateral y tálamo.
- d) Circuito orbitofrontal, lateral, que proyecta hacia la corteza orbitofrontal lateral y al tálamo.
- e) Circuito límbico, que proyecta a la corteza cingulada anterior, a la corteza orbitofrontal medial y al tálamo (Alexander y Crutcher, 1990; Smith et al 1998).

El circuito motor se basa en la llamada “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 esta se hacen relevos en el GPe y NST, para finalmente dirigirla hacia los núcleos de salida (Chesselet y Graybiel, 1986; Crossman,1990; 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 D₁ y los neuropéptidos sustancia P y dinorfinas, mientras que en la vía indirecta expresan GABA, receptores a dopamina del subtipo D₂ y los neuropéptidos encefalinas (Gerfen y Young, 1988; Missale et al. 1998; Smith et al. 1998)

Funcionalmente, la activación de ambas vías produce 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 presentándose 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 los

núcleos de salida, inhibiéndose las neuronas del tálamo (Alexander y Crutcher, 1990; DeLong, 1990; Smith et al 1998) (Figura 2)

Con base a este modelo se puede tener un mejor panorama de la patofisiología de los desórdenes de movimiento asociados con la enfermedad de los ganglios basales. El incremento en la actividad de ambas vías se ha relacionado, primero con la facilitación del movimiento (vía directa) y 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 (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; D₁(D_{1L}, D₅) y D₂ (D₃,D₄, D_{1C}, y D_{1D}) (Clark y White, 1987; Gingrich y Caron, 1993; O'Dowd,1993; 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 D₁ (vía directa) se incrementan los niveles de expresión de sustancia P y dinorfina, así mismo cuando aumenta la denervación de receptores D₂ (vía indirecta), se incrementa la expresión de encefalinas (Gerfer et al. 1990; Missale et al. 1998).

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 como las que afectan a los ganglios basales (Graybiel, 1990; Albin, et al. 1989; Di Chiara et al. 1994).

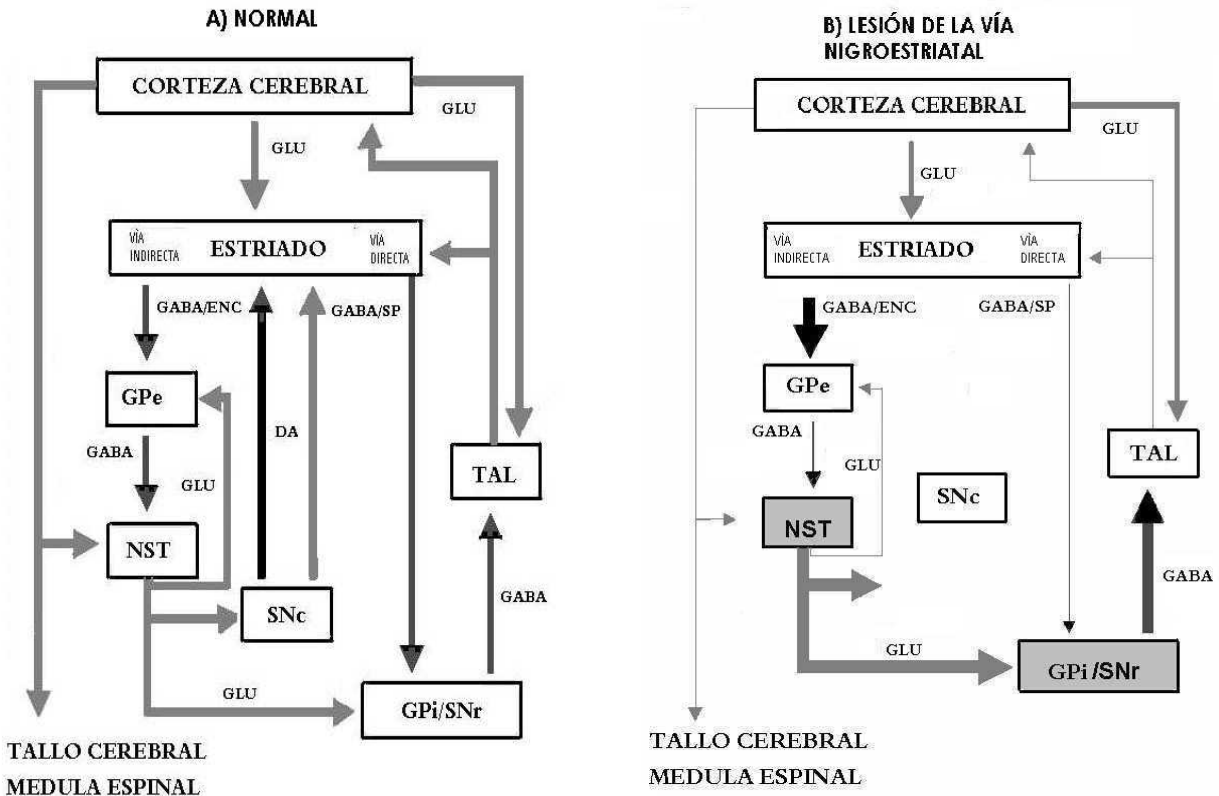


FIGURA 2. Modelo esquemático de la anatomía funcional del circuito motor corteza ganglios basales-talamo-corteza, mostrando las vías paralelas directa e indirecta. Las líneas grises representan las conexiones glutamatérgicas (GLU) excitatorias, mientras que las líneas negras muestran las conexiones GABAérgicas inhibitorias. **A:** circuito normal, en donde la vía directa incluye el Globo pálido interno (GPI) y la sustancia nigra reticular (SNr), mientras que la vía indirecta incluye el Globo pálido externo (GPe) y al Núcleo subtalámico. La dopamina (DA) proveniente de la sustancia nigra pars compacta (SNc) ejerce funciones diferenciales sobre las proyecciones de la vía directa e indirecta, mediante la activación de los receptores dopaminérgicos D1 y D2 respectivamente. El GPI/SNr proyectan de regreso hacia la corteza cerebral vía Talamo (TAL). otros de los neurotransmisores involucrados son, encefálicas, (ENC) y sustancia P (SP), **B:** Lesión de la vía nigroestriatal. El resultado de las alteraciones que se presentan después de la pérdida dopaminérgica en todo el circuito, esta indicado por el grosor de las flechas. La hiperactividad glutamatérgica del NST, es la posible causa de los síntomas parkinsonianos, ya que se incrementa la actividad de la SNr y el GPI y se sobreinhibe el circuito talamocortical. Modificado de Wichman y DeLong (1993)

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 (Graybiel 1990; Wilson, 1998). Asimismo la estimulación de los receptores dopaminérgicos, expresados por las interneuronas colinérgicas inhibe la liberación de acetilcolina (Kawaguchi et al. 1995). La administración de fármacos como la L-DOPA o la apomorfina inhibe la liberación de acetilcolina en el estriado, sin embargo este efecto puede ser bloqueado cuando se aplican antagonistas dopaminérgicos (Graybiel, 1990; 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 neuronas 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 1992), estableciéndose que la estimulación directa de los receptores D_1 facilita la liberación de acetilcolina transináptica mientras que la estimulación de los receptores D_2 la inhibe (Di Chiara y Morelli, 1993; Di Chiara, 1994).

Las proyecciones glutamatérgicas córtico-estriatales, además de las colaterales del NST y de algunas fibras talámicas, ejercen funciones excitatorias dentro del estriado estableciendo una interacción entre las terminales dopaminérgicas, colinérgicas y glutamatérgicas en las neuronas espinosas medianas (Smith y Bolam, 1990; Graybiel, 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 principales: en los cuerpos celulares y en las terminales axónicas (Smith y Bolam, 1990). 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 (GABA) tiene una influencia inhibitoria sobre las interneuronas estriatales (Scatton, 1987)

Como se mencionó anteriormente, los neuropéptidos se encuentran distribuidos de manera diferencial en ambas vías (Graybiel, 1990; Gerfen, 1992). Se ha reportado que la interacción entre la dopamina, GABA y encefalinas, estimulan la actividad locomotora en la rata (Voorn et al. 1987; Reid et al. 1990). Asimismo la sustancia P, neuroquininas y dinorfinas también estimulan esta actividad (Herrera-Marschitz et al. 1986), sin embargo, cuando se administra naloxona (antagonista de los receptores a opiáceos) esta actividad se suprime (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 (Graybiel, 1990; Angulo y McEwen, 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 metionina-encefalina y preproencefalinas (Graybiel, 1990; Pickel et al. 1992; Wilson 1998). De acuerdo a estos resultados, la dopamina ejerce una inhibición tónica sobre los neuropéptidos dentro del estriado de ratas.

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 (Herrera-Marschitz et al. 1986; Kawaguchi et al. 1995).

POBLACIONES CELULARES

Estudios celulares con tinción de Nissl revelan la existencia de aproximadamente 111 millones de neuronas en el estriado de humano (Fox et al. 1975). De las cuales, se han descrito diferentes tipos neuronales (Chang et al. 1982a; Gravenland et al. 1985). Se estima que el 95% de las neuronas estriatales son neuronas espinosas medianas caracterizadas por un cuerpo celular que mide entre 10-20 μ 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 a 30 ramificaciones dendríticas que irradian en todas direcciones, presentando un radio de 300 a 500 μ m (Wilson, 1998). Su axón colateral se distribuye en la misma área que su árbol dendrítico (Grofova, 1975; Somogyi et al. 1981; Wilson y Groves, 1980) (Figura 3A). Se ha reportado otro tipo de neuronas espinosas menos común, que tiene como característica una menor densidad de espinas dendríticas, un soma más largo y pocas pero largas ramificaciones dendríticas (Bolam et al. 1981; Graveland et al. 1985)

El 5% restante de la población total del estriado está formado por varios tipos de neuronas llamadas interneuronas, en donde su principal característica es la de carecer de espinas en las dendritas (Figura 3B). Se han identificado entre 7 y 8 tipos de interneuronas con base a su morfología, sin embargo solo se conocen tres tipos con detalle de acuerdo al tipo de neurotransmisor y neuromodulador que expresan caracterizándose estructuralmente y funcionalmente como:

1. Interneuronas gigantes colinérgicas, que presentan 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; Wilson,1998)
2. Interneuronas en forma de canasta que contienen GABA/parvoalbumina, que son entre el 3-5% del número total de células, además incluyen otro grupo de interneuronas que contienen GABA/calretinina, sin embargo este tipo de interneuronas no esta caracterizada con detalle.

3. Interneuronas que contienen somatostatina /óxido nítrico sintetasa, que representan el 1-2% de la población total (DiFiglia et al 1982; Kawaguchi et al 1995; Wilson 1998) (Figura 3B)

En especies como ratas, ratones y gatos, las neuronas espinosas medianas de proyección representan el 95% del total de la población neuronal del estriado, aunque en otras especies este porcentaje varia, 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).



FIGURA 3. Neurona espinosa mediana que se caracteriza por presentar espinas dendríticas (A) y una interneurona colinérgica la cual se caracteriza por carecer de espinas dendríticas (B).

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; 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 las cuales han sido propuestas como dopaminérgicas (Freud et al. 1984), un tipo contiene vesículas sinápticas pleomorfas pequeñas y el otro contiene vesículas pleomorfas grandes (Fox et al. 1971; Smith y Bolam, 1990; Smith, et al. 1998). Las dendritas dístales 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 en la región de la cabeza que recibe sinapsis asimétricas con vesículas redondas pequeñas (Mensah, 1980; Tanaka, 1980; Smith et al. 1998)

ESPINAS DENDRÍTICAS

El término de espinas fue introducido por Cajal en 1888 en su primera descripción de los pequeños apéndices que salen de las ramificaciones de las células de Purkinje. El término se extendió a los apéndices similares observados en las dendritas en las neuronas piramidales y estrelladas de la corteza, a las neuronas espinosas medianas estriatales, a las neuronas granulares olfatorias, a las neuronas piramidales de hipocampo, entre otras (Shepherd, 1996); Dichas espinas se caracterizan por tener una cabeza y un tallo delgado llamado cuello, que está adherido a la dendrita o al soma; recientemente se ha reportado que la vida media de la espina es de 13 meses en ratón adulto (Grutzendler et al. 2002) (Figura 4)

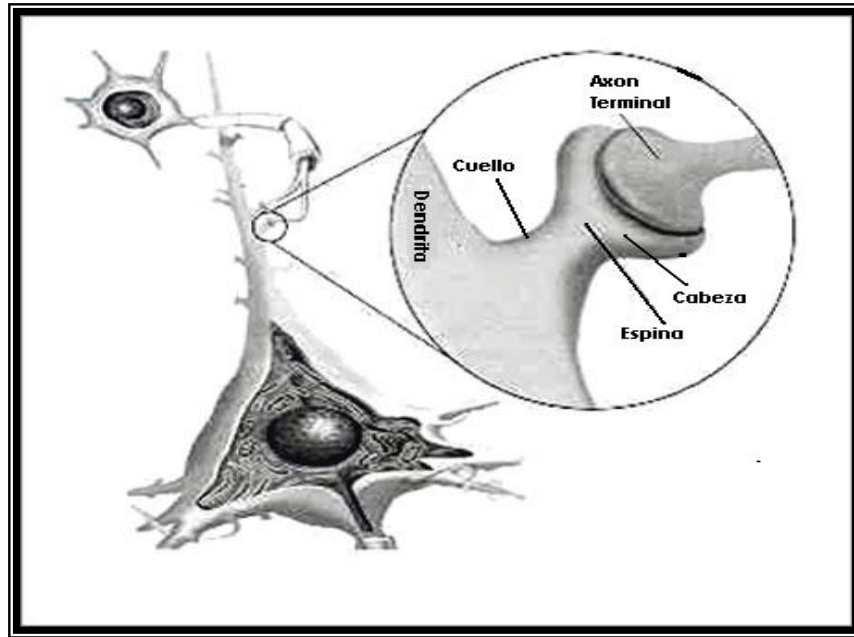


FIGURA 4. Esquema de una espina dendrítica estableciendo un contacto sináptico con una terminal axónica. En donde se puede apreciar la cabeza y el cuello de la espina.

Las espinas dendríticas varían en diámetro, volumen y superficie, las espinas largas tienen cabeza de $1.0\mu\text{m}$ de diámetro, mientras que el cuello puede ser de 40-50 nm, aunque existen algunas que pueden llegar a medir 100-200nm, de diámetro, una simple espina dendrítica en neuropilo denso es usualmente menor a $2\mu\text{m}$ de largo (John, et al. 2002).

Se puede distinguir a las espinas dendríticas por la composición de sus organelos subcelulares como el retículo endoplásmico liso el cual frecuentemente es laminado en una estructura llamada aparato espinoso (Spacek, J. 1985), algunas espinas contienen vesículas, cuerpos multivesiculares o polirribosomales (Spacek y Harris, 1997).

Morfológicamente las espinas son clasificadas como: delgadas, hongo y forma de copa (Yuste y Bonhoeffer, 2004).

Las diferencias estructurales de la espina parecen ser importantes para la integración sináptica y para la compartimentalización molecular. Ambas funciones son especialmente sensibles a la longitud y al diámetro del cuello de la espina. Algunos modelos teóricos muestran que los cuellos más delgados y largos presentan mayor despolarización de la cabeza de la espina ante un estímulo dado (Schiller et al. 1998).

Existen varias teorías acerca de la función de las espinas dendríticas:

- ⇒ Las espinas dendríticas son sitios de conexión sináptica. Donde se demostró que las sinapsis tipo I (sinapsis asimétricas) con la acción excitatoria de las sinapsis glutamatergicas, se establecen con la cabeza, mientras que las sinapsis tipo II, las cuales son inhibitorias, se establecen con el cuello y con las dendritas. Por lo cual se ha sugerido que las espinas podrían funcionar como compuertas de entrada hacia las dendritas (Shepherd, 1996).
- ⇒ Las espinas son compartimentos que controlan las concentraciones de Ca^{2+} . Los experimentos de Müller y Connor (1991) demostraron que con una estimulación presináptica débil de las fibras comisurales, el Ca^{2+} se acumula en las espinas postsinápticas pero no en sus dendritas, una estimulación más potente también provoca cambios en las dendritas. La compartimentalización observada permite la especificidad, cooperación y asociación que se observa en los modelos de memoria tales como la LTP (Müller y Connor, 1991; Shepherd, 1996; Yuste, et al. 1999).
- ⇒ Las espinas dendríticas como neuroprotectores. Los posibles efectos que producen las altas concentraciones de Ca^{2+} provocados por la actividad sináptica, ha sugerido la hipótesis de que el principal papel de las espinas es prevenir a su dendrita de los incrementos del Ca^{2+} , niveles que en ocasiones pueden ser tóxicos para la célula. (Segal, 1995). Lo anterior podría ser particularmente importante en las dendritas dístales, en donde, debido a sus pequeños diámetros, las concentraciones de Ca^{2+} podrían alcanzar niveles muy altos (Shepherd, 1996). El principal mecanismo de la espina al parecer es atrapar el Ca^{2+} en el retículo endoplásmico, particularmente en el aparato espinoso (Yuste y Denk, 1995; Shepherd, 1996)

MODELOS EXPERIMENTALES

Los estudios en animales experimentales han sido de gran ayuda para dilucidar los mecanismos básicos que regulan la función neuronal tanto a nivel celular, molecular y conductual. La finalidad de generar estos modelos es recrear algunos de los eventos que suceden en las enfermedades neurodegenerativas (Anaya, 1997). Entre las neurotoxinas selectivas que han sido ampliamente utilizadas en animales experimentales, y que afectan a las neuronas productoras de dopamina se encuentra el 1-metil-4fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) y la 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (Winn,1991). Existen otros modelos que inducen la degeneración de las neuronas dopaminérgicas, sin embargo su empleo es menos frecuente como la metanfetamina y rotenone (Alexi et al. 2000).

Específicamente, la 6-OHDA es una neurotoxina selectiva de las neuronas dopaminérgicas, la cual es incorporada a la neurona por el sistema de recaptura de dopamina de alta afinidad, y actúa inhibiendo el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, de este modo reduce la generación de ATP (Glinka et al. 1998) y causa la producción de especies reactivas de oxígeno, como el superóxido (O₂), radical hidroxilo (OH) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂), induciendo subsecuentemente la degeneración de las terminales axónicas y de los cuerpos celulares (Ungerstedt, 1968; Heikkila y Cohen, 1971; Zigmond et. al. 1990, Otero-Siliceo. 1996). Por lo que la 6-OHDA exógena ha sido ampliamente utilizada para imitar aspectos selectivos de este trastorno.

Ahora bien la inyección de 6-OHDA en el haz nigroestriado induce degeneración neuronal que afecta por igual a las neuronas dopaminérgicas de la SNc que proyectan al estriado y a las del área ventral tegmental, que forman parte del sistema dopaminérgico mesolímbico (Luquin, 2000). En este caso, la degeneración neuronal no parece ser debida a un transporte axonal retrógrado de la neurotoxina desde el estriado hacia las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales, si no que corresponde a una degeneración neuronal retrógrada secundaria a la lesión de terminales dopaminérgicas nigroestriatales (Sauer y Hoertel, 1994)

Después de la lesión unilateral en el haz medial del cerebro anterior o bien sobre la SNC con la 6-OHDA, el animal presenta giro espontáneo ipsilateral, disminuye su conducta exploratoria espontánea y presenta adipsia (Abolición de la necesidad de beber) y afagia (Abolición de la necesidad de comer) (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 Arbuthnott, 1970; Ungerstedt, 1971c.).

Una de las drogas que han sido empleadas para inducir la conducta de giro es la apomorfina la cual actúa sobre las terminales postsinápticas, produciendo 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). 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, 1971c; Hefti et al. 1980; Dravid et al. 1984)

CONSECUENCIAS DE LA DEPLECIÓN DOPAMINÉRGICA

La denervación dopaminérgica estriatal provoca un aumento en la densidad de los receptores D₂ y disminución de los receptores D₁ (Radja et al. 1993; Qin et al. 1994), lo cual resulta en complejas alteraciones en la circuiteria de los ganglios basales (Albin et al. 1989; DeLong, 1990), (Figura 2B). Se ha propuesto que las neuronas que contienen los receptores D₁, reducen su tasa de disparo, lo que trae como consecuencia una reducción en la inhibición de las neuronas de la SNr/GPi, mientras tanto las neuronas que contienen receptores D₂ y que proyectan al GPe producen una hiperactividad glutamatergica del NST, y las neuronas de la SNr y GPi que proyectan al tálamo son GABAérgicas e inhibitorias, de tal forma que se sobreinhibe el circuito talamocortical (DeLong, 1990), dicha reducción en la actividad talamocortical es evidenciada por estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) en pacientes con enfermedad de Parkinson (Playford, et al. 1992), por lo que se piensa que esta sobreinhibición, es la causa del temblor, la rigidez y la bradicinesia observada en los pacientes. (DeLong, 1990).

Rodríguez y cols. (1998), proponen la hipótesis que la hiperactividad glutamatérgica del NST, a través de la conexión a la SNc puede tener influencias excitotóxica en las neuronas dopaminérgicas sobrevivientes y provocar la progresión continua de la EP. Asimismo, en registros de neuronas espinosas de proyección han mostrado que la depleción provoca incremento en la liberación de neurotransmisores excitatorios (glutamato) y alteración de la sensibilidad de los receptores postsinápticos a diferentes neurotransmisores (Calabresi et al. 1993).

En ratas neonatas lesionadas con la neurotoxina 6-OHDA, se ha reportado, que además de existir pérdida de neuronas dopaminérgicas en la SNc y el área ventral tegmental, se observa pérdida de estas neuronas en el área retrobulbar de hasta un 42%, además de un incremento en las fibras inmunoreactivas a 5-HT (serotonina) en el estriado (Penit et al. 1997).

Con la depleción de dopamina, ultraestructuralmente, se ha observado incremento en el tamaño de los botones presinápticos, aumento en el número de sinapsis perforadas así como cambios en los blancos postsinápticos (Colín-Barenque, 1994; Avila-Costa, 1996; 1998), asimismo Meshul y cols (2000) lesionan unilateralmente en 3 diferentes sitios, como es la sustancia nigra compacta, corteza prefrontal y la combinación de la SNc/corteza prefrontal y reportan que en los tres grupos se presentó un incremento en la media del porcentaje de sinapsis asimétricas asociadas a sinapsis perforadas.

TRATAMIENTOS

El tratamiento de la enfermedad de Parkinson sigue siendo un problema de difícil solución. Desde que se demostró que la enfermedad se debía a una deficiencia de suministro de dopamina, se han establecido diversos tratamientos farmacológicos con el objeto de minimizar los síntomas de esta enfermedad y mejorar la función de las estructuras involucradas, (Kienzl et al. 1999).

1) L-DOPA (Levo-dihidroxifenilalanina) 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. (Otero-Siliceo, 1996). Los trabajos de Nagatsu y cols (1964) y de Levitt y cols (1965) demostraron que la hidroxilación del aminoácido L-tirosina es el punto de regulación de las catecolaminas y que la TH (Tirosina hidroxilasa) es la enzima limitante de la síntesis de la dopamina. La TH es una enzima oxidasa que utiliza L-Tirosina y oxígeno como sustrato y tetrahidrobiopterina (BH4) como cofactor para adicionar un grupo hidroxilo al aminoácido para formar L-DOPA (Nagatsu, 1981) (Figura 5).

A partir de 1967 se inicia la introducción de la L-DOPA como farmacoterapia. Y es indudable que el uso de este fármaco vino a revolucionar y mejorar la calidad de vida de los pacientes con enfermedad de Parkinson, permitiéndoles realizar sus actividades cotidianas (Barbeau, 1981), por lo que la L-DOPA es el fármaco sintomático más efectivo en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, ya que es un precursor de la dopamina que consigue atravesar la barrera hematoencefálica (BHE). La levodopa se absorbe bien en el intestino delgado, pero se inactiva en una gran proporción (próxima al 95%) por la MAO periférica y da lugar a la aparición de efectos secundarios como vómito y taquicardia. Además provoca que sólo una mínima parte de la dosis alcance la circulación cerebral; por lo que, con el fin de evitar esta transformación periférica, la levodopa suele administrarse asociada a un inhibidor de la descarboxilasa, incapaz de atravesar la BHE, como la carbidopa o la benseracida y de esta manera prolongar sus niveles plasmáticos y cerebrales. (Nombela, et al. 2002; Segura et al. 2003; García-Minet, et al. 2003).

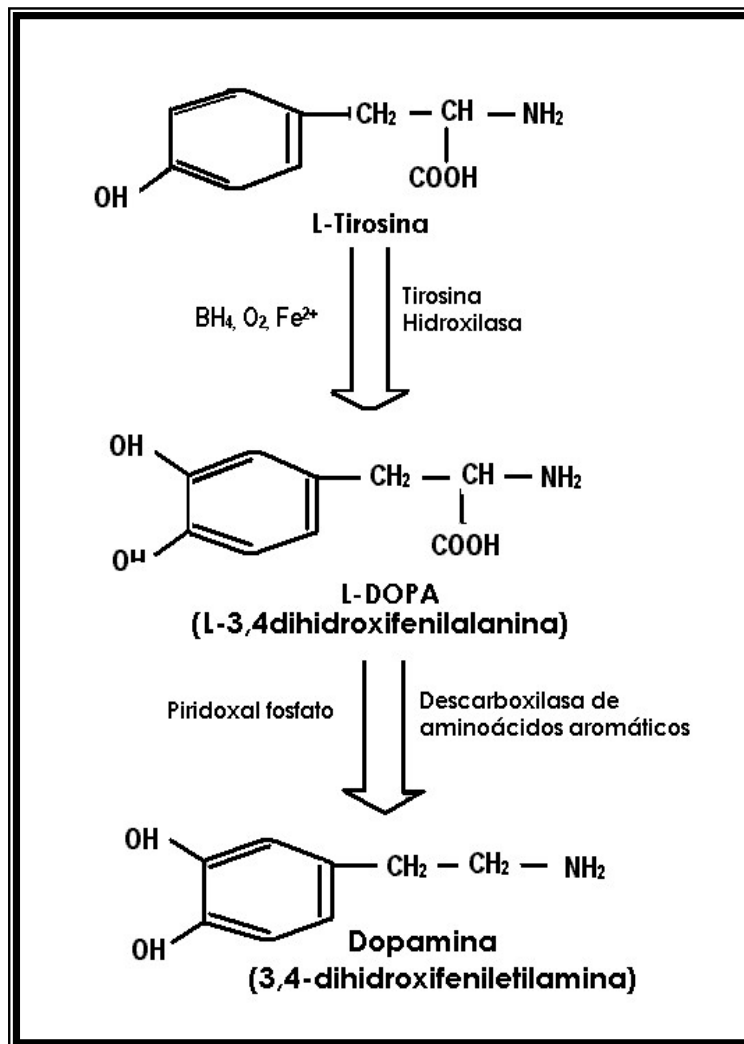


FIGURA 5. Síntesis de la Dopamina

Ahora bien las fluctuaciones motoras que se presentan son aún fenómenos difíciles de entender, dichas fluctuaciones motoras y fenómenos secundarios, como las disquinesias (dificultad para iniciar el movimiento), se presentan rara vez en los primeros meses de tratamiento con L-DOPA, excepto en algunos pacientes severamente afectados. Estos fenómenos adversos aparecen con mayor frecuencia después de un tiempo de evolución de la enfermedad y el uso de L-DOPA. Se ha observado que después de 10 años aproximadamente, el tratamiento con L-DOPA en pacientes Parkinsonicos, deja de ser efectivo (Wooten, 1990).

Los trastornos secundarios que se presentan después de un largo periodo de aplicación crónica de L-DOPA son:

- a) "Perdida de efecto al final de la dosis" (wearing-off), es decir cuando una dosis de L-DOPA no es suficiente para mejorar los síntomas de la enfermedad antes del tiempo indicado para la siguiente dosis. Este fenómeno se presenta después de 3 ó 5 años de uso continuo de L-DOPA.
- b) Estado efectivo-inefectivo (on-off), Complicación que se presenta después de tiempo indefinido e impredecible y consiste en periodos de buena respuesta a la L-DOPA y periodos de poca respuesta a este fármaco.

Se ha sugerido que estos cambios representan alteraciones farmacocinéticas de la L-DOPA, o que el efecto farmacodinámico de ésta altera la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos por la prolongada estimulación de los receptores o por los progresivos cambios patológicos de la enfermedad (Otero-Siliceo, 1996). También se ha reportado que la administración a largo plazo 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 (Jenner, 1995. Wolters et al. 1995).

2) La Bromocriptina es un derivado del ácido lisérgico, es decir un alcaloide que contiene antioxidantes, (Yoshikawa et al. 1994; Jenner, 1995), es agonista de los receptores dopaminérgicos D2 y antagonista de los receptores D1 (Jackson et al. 1988; Weiner, 1999; Ramaker et al. 2000). Funciona como barredor de radicales libres (Muralikrishnan y Mohanakumar, 1998), ya que cuando se administra en homogenizados 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 neuroprotección (Lange et al. 1994; Yoshikawa et al. 1994; Kondo et al. 1994; Tanaka et al. 1995; Ogawa, 1998; Yamamoto, 1998; Iida et al. 1999). La bromocriptina es utilizada en las etapas iniciales de la EP y atenúa las complicaciones motoras inducidas por la administración a largo plazo de la levodopa (Ramaker et al. 2000; Segura et al. 2003).

3) La amantadina es una sal ácida hidrosoluble tricíclica que tiene la capacidad de penetrar todas las membranas celulares y 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). También se ha reportado que probablemente ejerce una función protectora ya que actúa como un antagonista glutamatérgico, por lo que se ha postulado un potencial efecto neuroprotector de este fármaco (Segura et al. 2003).

4) La Selegenina que es un inhibidor de la enzima mono-amino-oxidasa tipo B (MAO-B) (Lees, 1991; Yahr et al. 1983; Hanson et al. 2001). Su administración retrasa, en algunos casos utilización del tratamiento con levodopa. Ensayos clínicos han puesto de manifiesto que la combinación de seleginina con levodopa a largo plazo resulta más eficaz para controlar los síntomas, aunque también existe mayor riesgo de discinesias relacionadas con levodopa (Stocchi y Olanow, 2003).

JUSTIFICACIÓN

En nuestro laboratorio se observaron alteraciones ultraestructurales con en el modelo animal de la enfermedad de Parkinson mediante la aplicación unilateral de la 6-hidroxidopamina (6-OHDA). Avila-Costa y colaboradores (1998) llevaron a cabo un estudio comparativo de biopsias de núcleo caudado de pacientes con enfermedad de Parkinson y fragmentos de caudados de animales lesionados con 6-OHDA, y reportaron que el patrón de degeneración a nivel ultraestructural era muy similar en ambos casos, encontrando alteraciones en los botones presinápticos (aumento en el diámetro), disminución de contactos sinápticos con espinas dendríticas –tipo de contacto característico en las neuronas del estriado—y sinapsis perforadas, así como también alteraciones en el neuropilo. Debido a que la L-DOPA es el fármaco más ampliamente utilizado en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y se ha reportado que el tratamiento a largo plazo trae como consecuencia fenómenos adversos fue de nuestro interés analizar el efecto de éste fármaco sobre la citología del estriado y la sustancia nigra, ya que hasta el momento no hay reportes citológicos que puedan explicar los posibles efectos adversos que produce.

OBJETIVO GENERAL

Analizar el efecto de la L-DOPA en la citología del estriado y sustancia nigra de rata lesionada unilateralmente con 6-OHDA.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Analizar las alteraciones ultraestructurales del núcleo caudado, después de la lesión unilateral con 6-OHDA con y sin tratamiento.
- Cuantificar el número de espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas del estriado.
- Llevar a cabo un análisis inmunocitoquímico anti-tirosinahidroxilasa con el fin de comparar el número de neuronas inmunorreativas en la sustancia nigra con y sin tratamiento.

METODOLOGÍA

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

Las ratas fueron lesionadas quirúrgicamente de la siguiente manera: Los animales fueron anestesiados con una dosis de 35mg/Kg de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal (i.p.). Una vez anestesiadas, fueron fijados en un aparato estereotáxico. Las coordenadas estereotáxicas empleadas fueron las siguientes a partir de bregma: AP= -2.8mm; L= 1.9mm; V=-8.6mm a partir de la dura madre (de acuerdo con 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 4µl de solución salina que contenía 8µl de 6-OHDA y 0.2 mg de ácido ascórbico.

El segundo grupo consistió en 6 ratas (grupo control) que fueron lesionadas en el mismo sitio con 4µl de vehículo –solución salina y ácido ascórbico- Ambas soluciones se inyectaron 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, se les administró apomorfina a una dosis de 0.25 mg/Kg i.p a dos días después de la lesión. Se utilizaron sólo aquellos animales lesionados con 6-OHDA que mostraron más de 200 giros en un periodo de 30 minutos. A las 24 horas después de esta evaluación, seis ratas lesionadas fueron tratadas con 15 mg/Kg de L-DOPA por vía oral durante 30 días, seis ratas lesionadas no recibieron el tratamiento y las ratas del grupo control (n=6) se mantuvieron por el mismo tiempo.

Los animales de los tres grupos fueron entonces sacrificados con pentobarbital sódico con una dosis letal i.p. a los 30 días del tratamiento; y se realizó una perfusión intracardiaca por vía aórtica inicialmente con una solución salina isotónica para posteriormente administrar el fijador, que contenía glutaraldehído al 2% y paraformaldehído al 2% en buffer de fosfatos salino (PBS) al 0.1M.

Una vez profundidos, se extrajeron los cerebros y se colocaron en fijador durante una hora. Posteriormente se tomaron fragmentos del estriado ipsi y contralateral a la lesión para el proceso de microscopía electrónica de transmisión, así como para la técnica de Golgi.

Asimismo se obtuvo el mesencéfalo ventral (Sustancia nigra) para el proceso y análisis inmunocitoquímico.

El análisis ultraestructural consistió en la medición de 50 botones presinápticos de ambos estriados (lado ipsilateral y contralateral) considerándose los siguientes parámetros.

- Diámetro del eje mayor y del eje menor.
- Estructura postsináptica (espina o dendrita)
- Número de sinapsis perforadas

Las pruebas estadísticas que se utilizaron para el análisis de resultados fueron:

Para el diámetro de los botones sinápticos se utilizó la prueba ANOVA. Para las características del botón sináptico (tipo de contacto sináptico, estructura postsináptica y número de contactos perforados) se utilizó la prueba de Wilcoxon.

Asimismo el análisis inmunocitoquímico consistió en el conteo del número de neuronas inmunorreactivas a TH en 1250 μ m en 7 cortes.

Ahora bien, los cortes citológicos se observaron en un microscopio óptico y se realizó un análisis cuantitativo de las neuronas espinosas medianas del estriado en donde se contó el número de espinas dendríticas en una longitud de 10 μ m. El conteo del número de espinas dendríticas se llevó a cabo en cinco dendritas secundarias de 10 neuronas espinosas medianas.

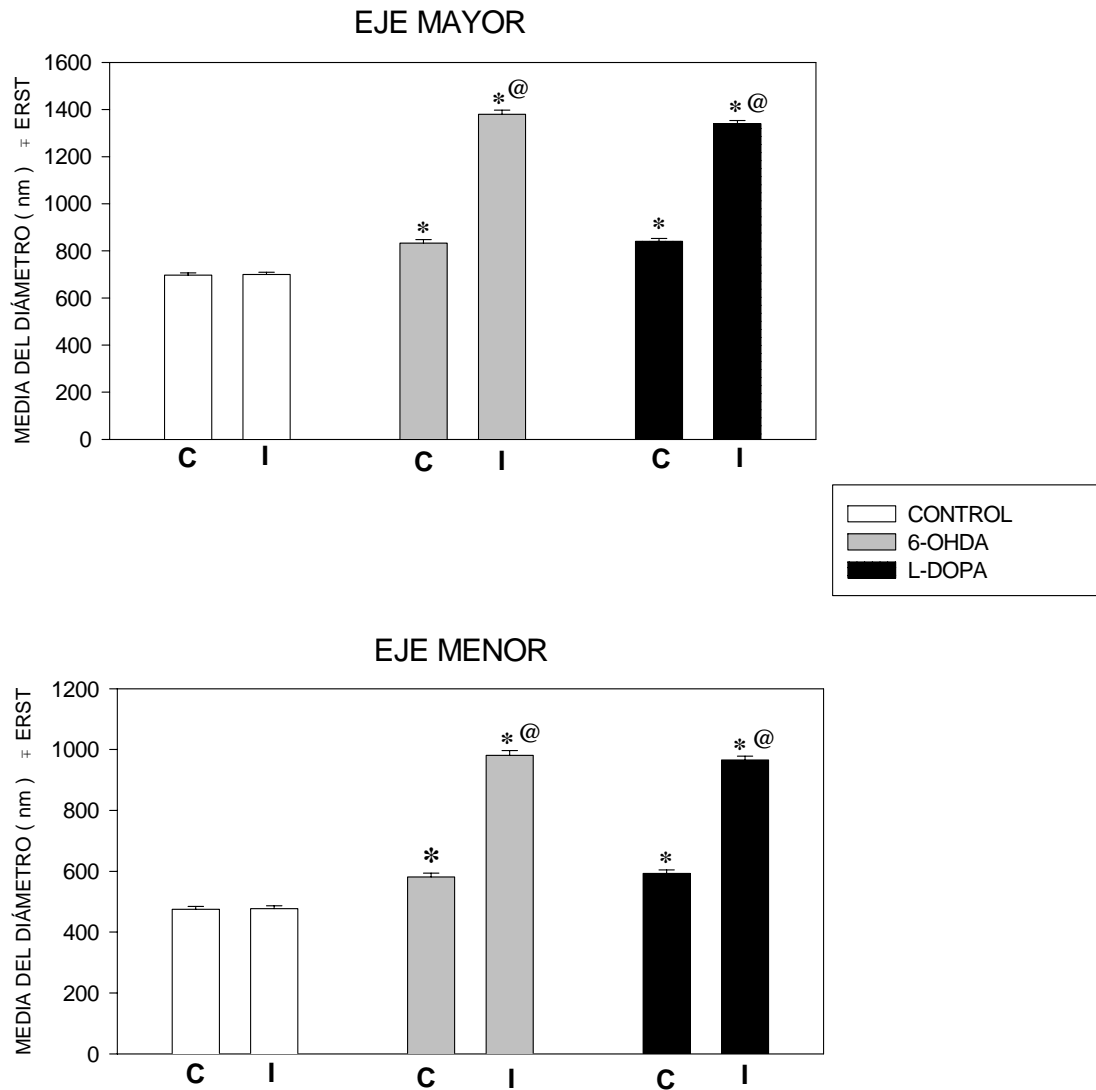
Las pruebas estadísticas que se utilizaron para ambas técnicas fue la de ANOVA y Tukey.

RESULTADOS

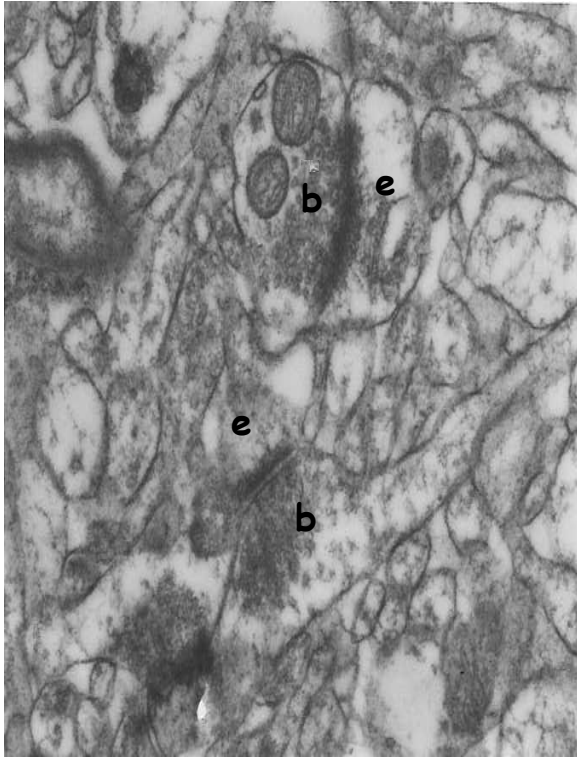
DIÁMETRO DE LOS BOTONES SINÁPTICOS

En la grafica 1 se muestra la media del diámetro de botones presinápticos, donde en el grupo control no se observó edema, en cambio el grupo lesionado con 6-OHDA presentó un aumento drástico en el tamaño de los botones sinápticos, solo en el lado ipsilateral, este mismo comportamiento se apreció en el grupo tratado con L-DOPA, por lo que se observaron en ambos grupos diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control. El lado contralateral tanto del grupo lesionado con 6-hidroxidopamina, así como el grupo tratado con L-DOPA mostraron un menor número botones sinápticos con edema, encontrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control; además se encontró que no existieron diferencias significativas entre el lado contralateral e ipsilateral del grupo lesionado con 6-OHDA con respecto a el lado contralateral e ipsilateral del grupo tratado con L-DOPA. Mas aún en las muestras analizadas se encontraron evidentes cambios degenerativos en el grupo lesionado con 6-OHDA, como son la presencia de vacuolas en el neuropilo, lo mismo se pudo observar en el grupo tratado con L-DOPA en comparación con el grupo control, en donde el neuropilo se encuentra bien conservado (Figura 6).

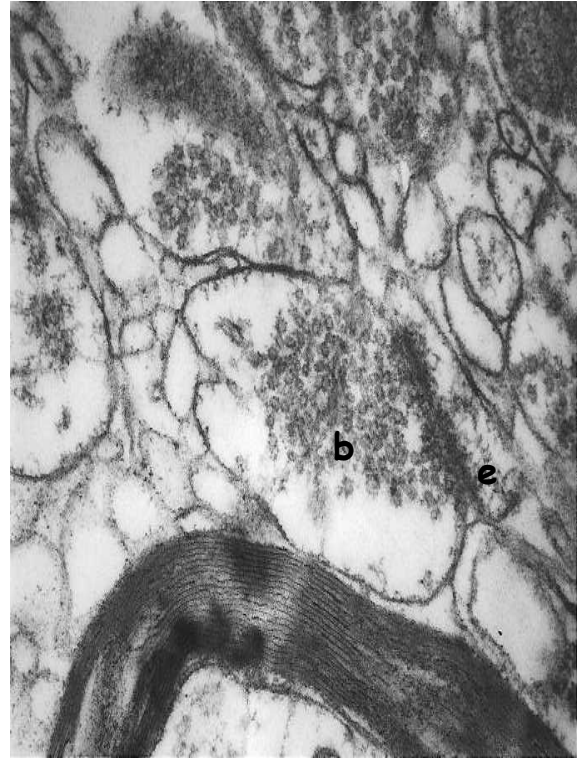
DIÁMETRO DEL BOTÓN PRESINÁPTICO



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 estriados ipsi (I) y contralateral (C) a la lesión de los tres grupos analizados.
En donde * = $P < 0.001$ vs grupo control
@ = $P < 0.001$ estriado contralateral vs estriado ipsilateral

A

0.2µm —

B

0.2µm —

FIGURA 6. A Microfotografía de una animal del grupo control en donde se observa: el neuropilo bien conservado; dos botones presinápticos (**b**) estableciendo contacto con espinas dendríticas (**e**). En B se muestra un boton sináptico (**b**) con edema estableciendo contacto con una espina dendrítica, el neuropilo se encuentra muy vacuolado. Estas características prevalecieron en el grupo lesionado con 6-OHDA del lado ipsilateral, y el grupo lesionado con 6-OHDA + L-DOPA del lado ipsilateral.

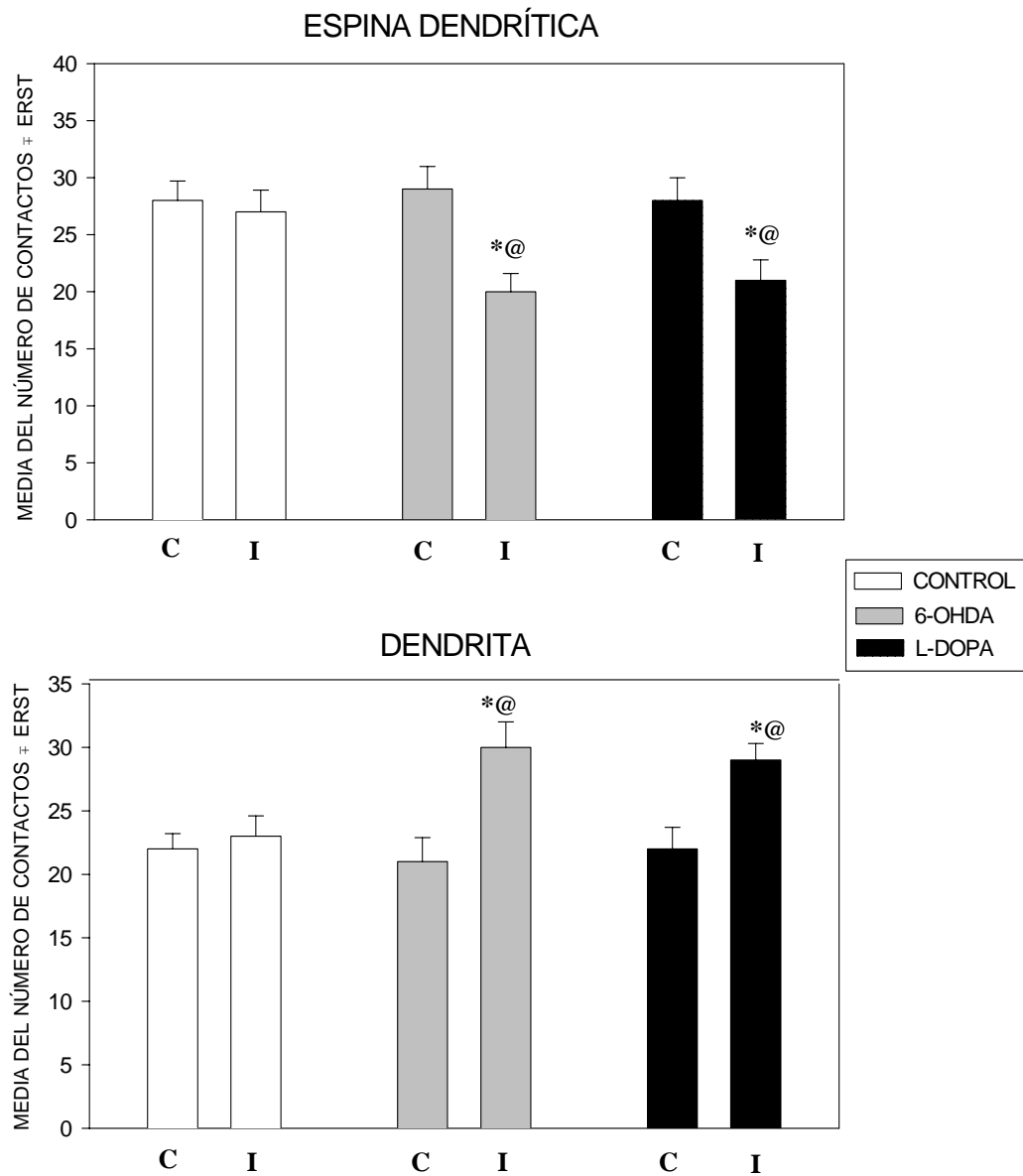
ESTRUCTURA POSTSINÁPTICA

Al analizar la estructura postsináptica (espinas o dendrita) con la cual se establecía el contacto sináptico, podemos apreciar en la grafica 2, que en el grupo control, prevalecían los contactos sinápticos con espinas dendríticas, a diferencia del grupo lesionado con 6-OHDA y el grupo tratado con L-DOPA, en donde se presentó una disminución de contactos con espinas dendríticas solo en el lado ipsilateral, observándose diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control. En el grupo lesionado con 6-OHDA, el lado contralateral e ipsilateral no presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al lado contralateral e ipsilateral del grupo tratado con L-DOPA (Figura 6 y 7)

SINÁPSIS PERFORADAS

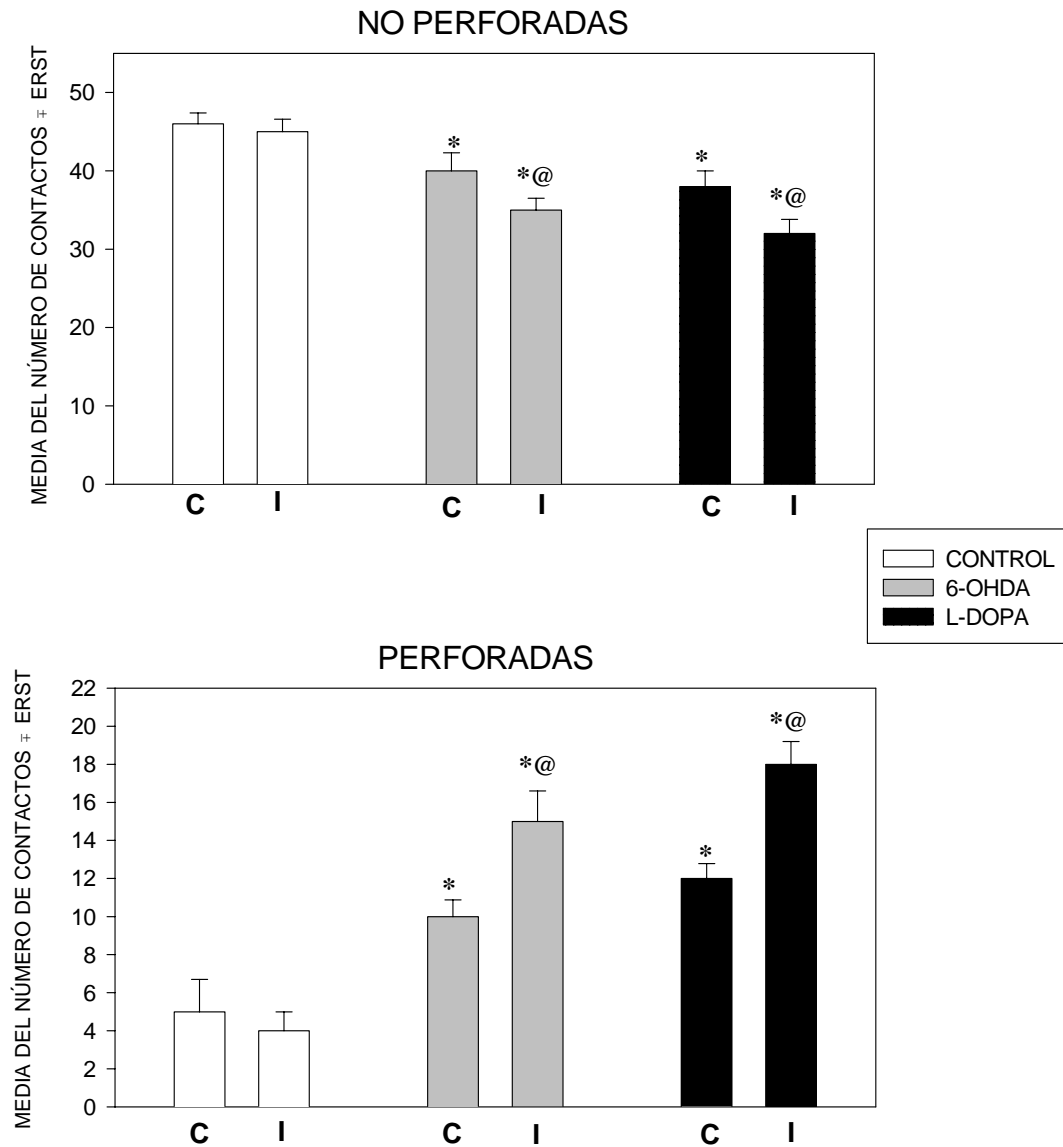
En cuanto a las sinapsis perforadas, se puede apreciar en la grafica 3, que el grupo control presentó mayor número de contactos sinápticos sin perforaciones (contacto simple) en la estructura postsináptica, en contraste el grupo lesionado con 6-OHDA y el grupo tratado con L-DOPA presentaron un aumento en el número de contactos perforados (esto es, que el botón presináptico presentaba una ruptura o interrupción en la densidad sináptica) en ambos estriados, siendo más evidente en el lado ipsilateral, observándose diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control, además no se observaron diferencias estadísticamente significativas en lado contralateral e ipsilateral del grupo lesionado con 6-OHDA con respecto a el lado contralateral e ipsilateral del grupo tratado con L-DOPA (Figura 7-B).

ESTRUCTURA POSTSINÁPTICA



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 y contralateral a la lesión de los tres grupos.
 En donde * = P (0.001) vs grupo control
 @ = P (0.001) estriado contralateral vs estriado ipsilateral

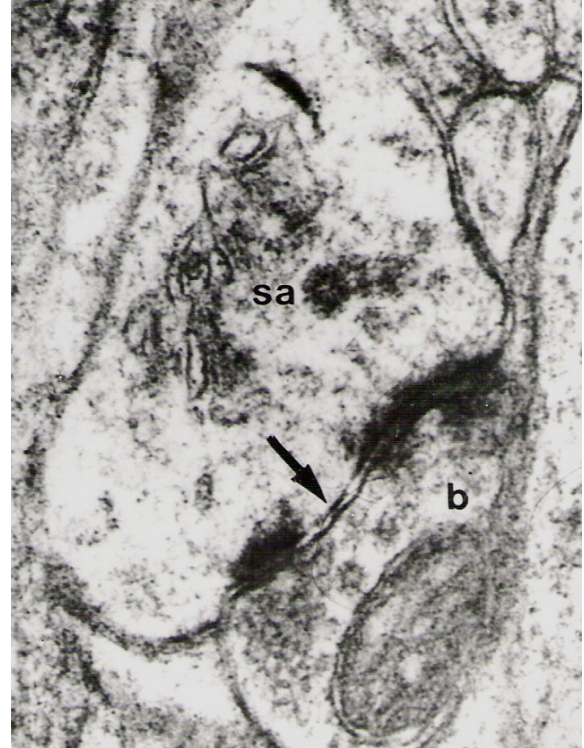
NÚMERO DE CONTACTOS SINÁPTICOS



GRAFICA 3 En esta gráfica se muestra la media del número total de botones sinápticos que establecieron contactos no perforados o perforados en los caudados ipsi (I) y contralateral (C) a la lesión de los tres grupos analizados. En donde * = $P < 0.001$ grupo control
 @ = $P < 0.001$ estriado contralateral vs estriado ipsilateral

A

0.2μm —

B

0.2μm —

FIGURA 7. Microfotografías en donde se observa: A.- Botón presináptico (**b**) estableciendo contacto con una dendrita (**d**) del estriado de un animal del grupo lesionado con 6-OHDA. Este tipo de contacto prevaleció tanto en el grupo lesionado sin tratamiento como en el lesionado y tratado con L-DOPA. B.- Botón presináptico (**b**) estableciendo contacto perforado (**→**) con una espina dendrítica en donde es muy evidente el aparato espinoso (**sa**) del estriado de un animal del grupo tratado con L-DOPA. Los grupos experimentales presentaron gran cantidad de contactos sinápticos perforados en comparación con el grupo control.

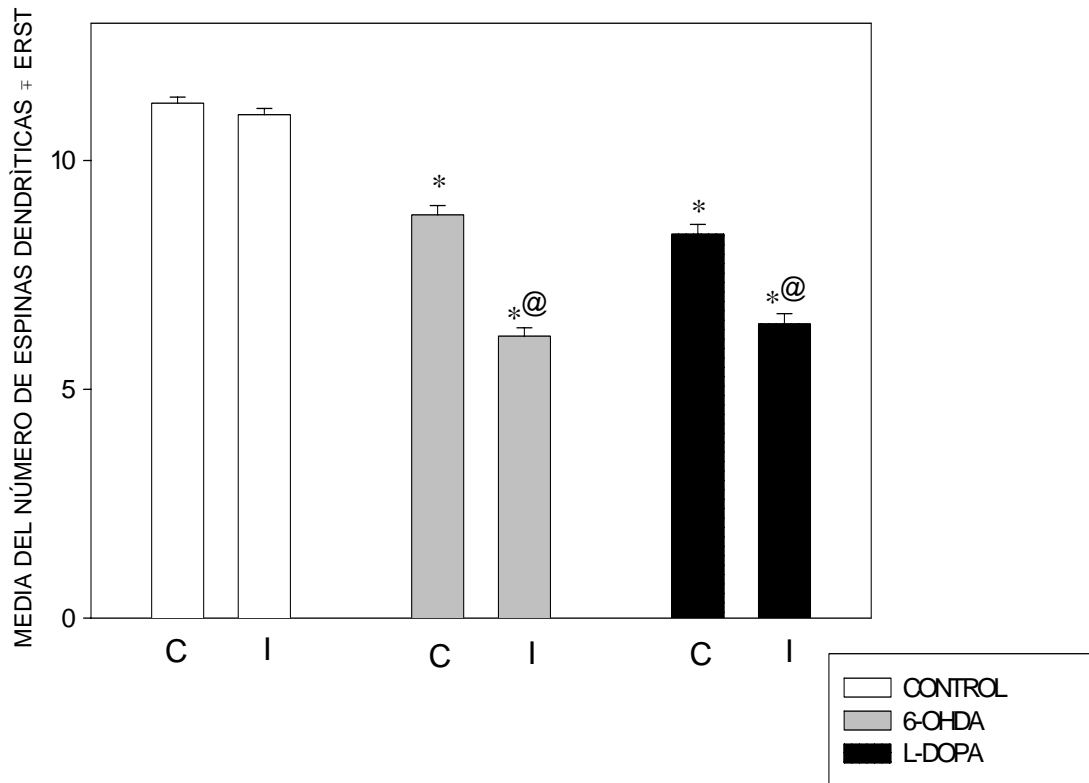
NÚMERO DE ESPINAS DENDRÍTICAS

En la gráfica 4 se puede apreciar la media del número de espinas dendríticas, donde el grupo control mantuvo el número de espinas dendríticas en ambos estriados, en cambio, en el grupo lesionado con 6-hidroxidopamina se observó una disminución de las espinas dendríticas en ambos estriados, siendo más drástica esta pérdida en el lado ipsilateral, asimismo el grupo tratado con L-DOPA presentó valores muy similares, por lo que ambos grupos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control. El lado contralateral e ipsilateral no presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al lado contralateral e ipsilateral del grupo tratado con L-DOPA (Figura 8)

NÚMERO DE NEURONAS INMUNORREACTIVAS A TIROSINA HIDROXILASA

En la grafica 5 se muestran los valores de las medias del número de neuronas inmunorreactivas a TH. Como se puede apreciar el grupo control mantuvo el número de neuronas en ambos estriados, a diferencia del grupo lesionado con 6-OHDA, y el grupo tratado con L-DOPA quienes presentaron una disminución drástica en el número de células en ambos estriados, observándose diferencias estadísticamente significativa con respecto al grupo control. El lado contralateral del grupo tratado con L-DOPA presentó valores más bajos al lado contralateral del grupo lesionado con 6-OHDA, pero aún así no existían diferencias estadísticamente significativas entre ambos lados (Figura 9)

ESPINAS DENDRÍTICAS



GRAFICA 4 En esta gráfica se muestra la media del número total de espinas dendríticas de los estriados ipsi (I) y contralateral (C) a la lesión de los tres grupos. En donde * = $P < 0.05$ vs grupo control
@ = $P < 0.05$ estriado contralateral vs estriado ipsilateral

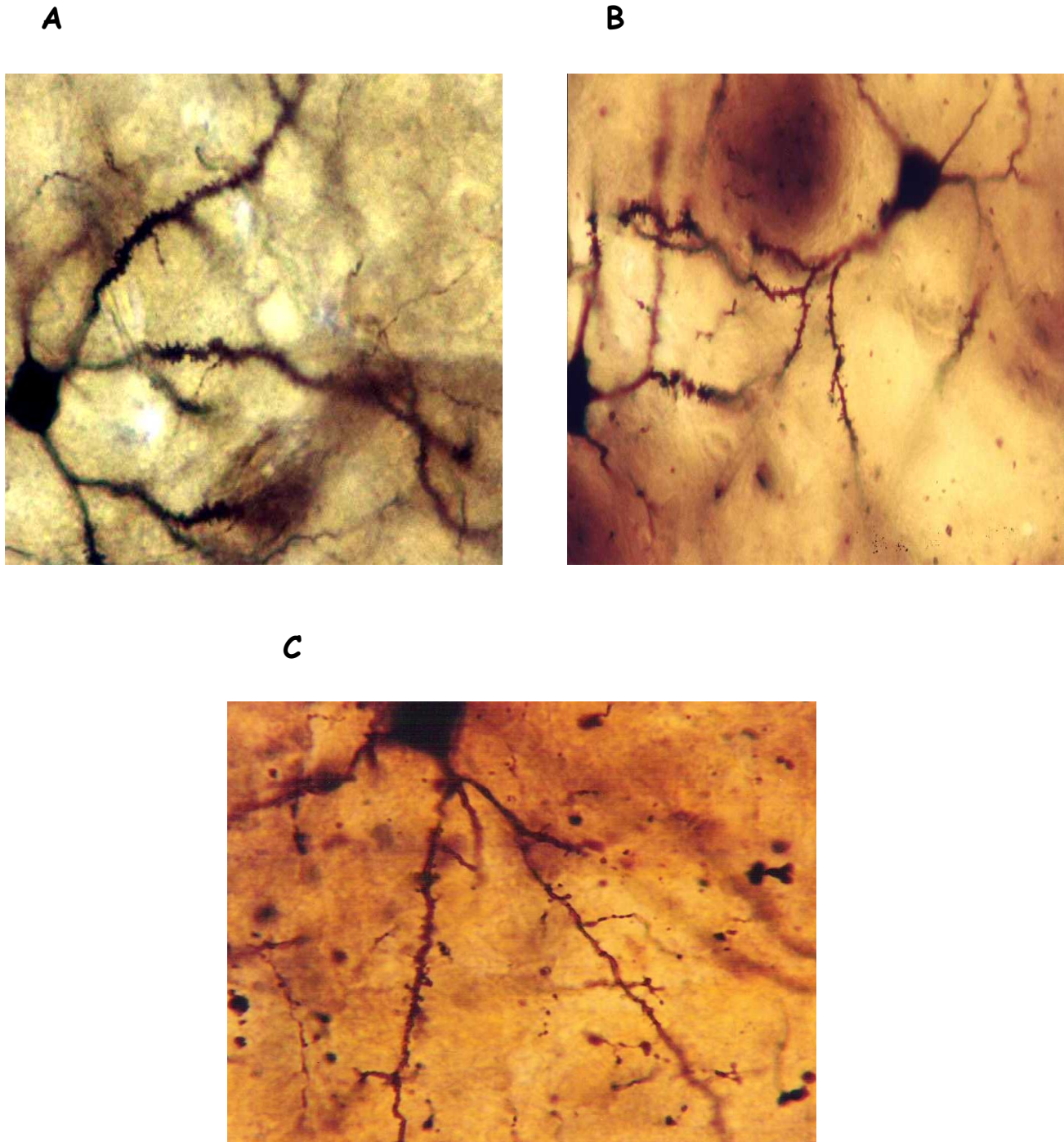
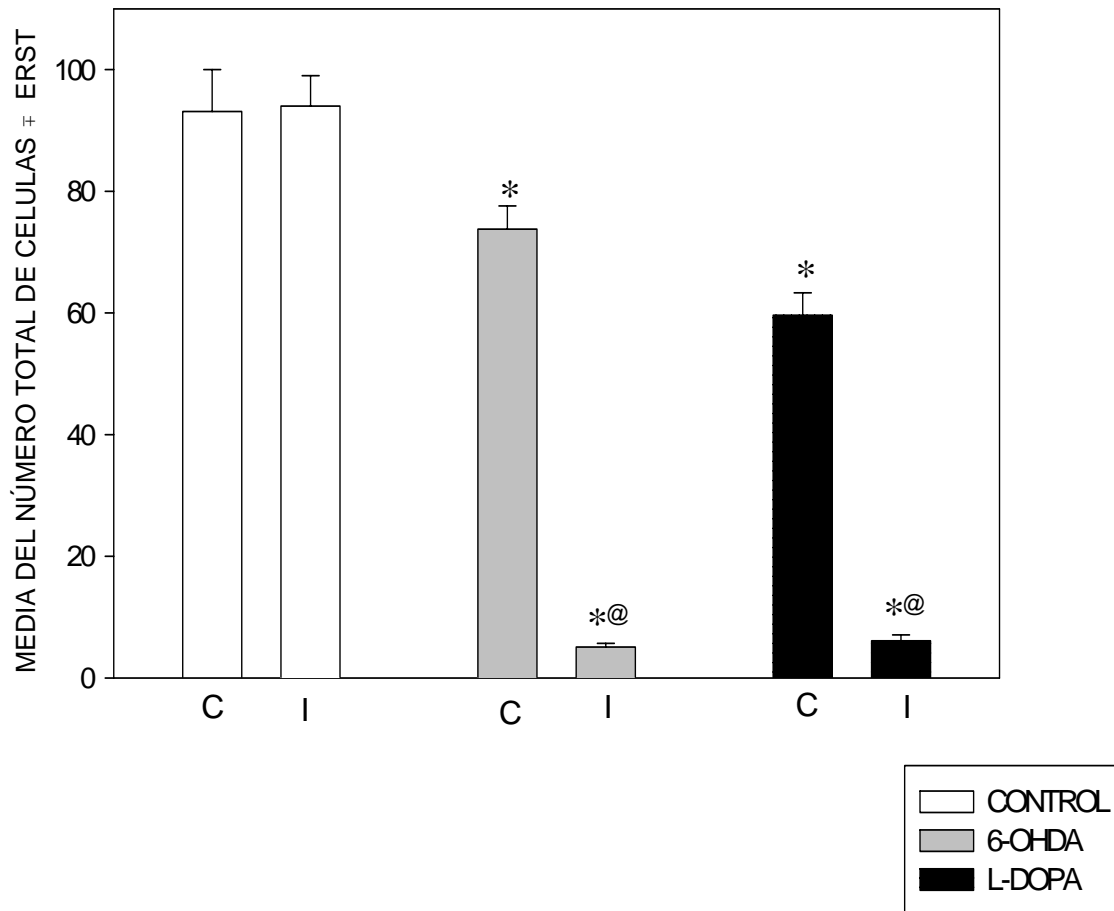


FIGURA 8 Micrograffias con tinción de Golgi de neuronas espinosas medianas del estriado ipsilateral a la lesion (lado lesionado), del grupo control (A), grupo lesionado con 6-hidroxidopamina (B) y del grupo lesionado con 6-OHDA + L-DOPA (C). En donde se observó una drástica pérdida de espinas dendríticas tanto en el grupo lesionado con 6-OHDA así como en el grupo lesionado y tratado con L-DOPA. Magnificación 400X

NEURONAS INMUNOREACTIVAS A TH



GRAFICA 5 En esta gráfica se muestra la media del número total de neuronas inmunoreactivas a TH de los estriados ipsi (I) y contralateral (C) a la lesión de los tres grupos. En donde * = $P < 0.05$ vs grupo control
@ = $P < 0.05$ estriado contralateral vs estriado ipsilateral

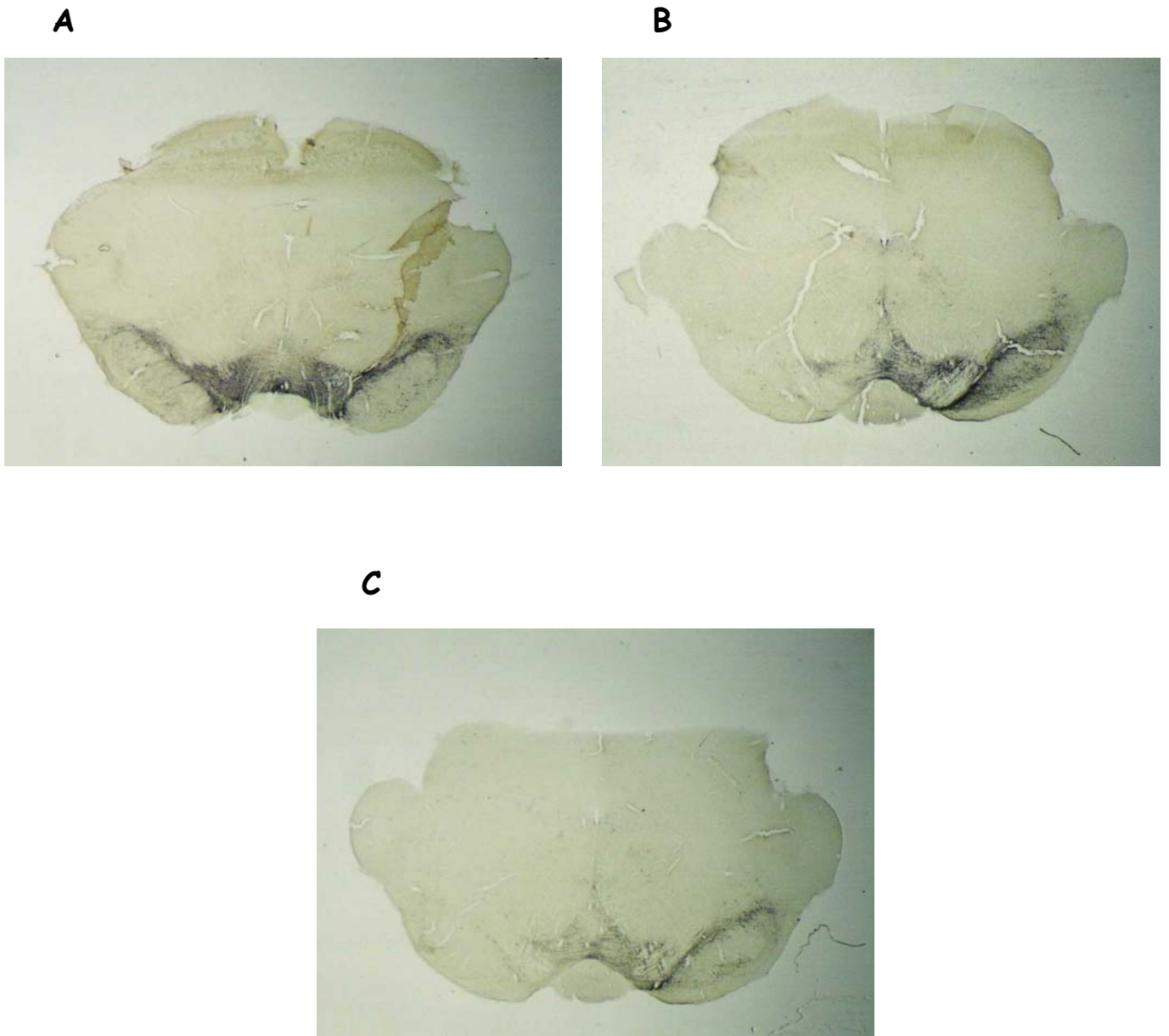


FIGURA 9 Micrografías de neuronas inmunoreactivas a TH de la SNc del lado contralateral e ipsilateral a la lesión, del grupo control (A), grupo lesionado con 6-hidroxidopamina (B) y del grupo lesionado con 6-OHDA + L-DOPA (C). En los grupos experimentales se observó una evidente pérdida de neuronas dopaminérgicas.

DISCUSIÓN

La depleción unilateral de dopamina produce alteraciones en el diámetro de los botones presinápticos, aspecto que se confirma con los datos que reportan Colín-Barenque (1994) en biopsias de pacientes con enfermedad de Parkinson, Avila-Costa (1996) e Ingham y cols. (1991) en ratas lesionadas con 6-OHDA.

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 primer instancia de las estructuras postsinápticas y finalmente de los cuerpos celulares (Soto-Otero et al. 2000). Entonces es posible que para compensar la pérdida dopaminérgica, los botones sinápticos restantes degeneren (se hinchen) y ocupen mayor espacio (Ingham et al. 1991). Arbuthnott e Ingam (1993) han postulado que la dopamina de alguna manera mantiene la integridad de la membrana de los botones sinápticos, por lo que al no estar presente en el estriado, las membranas son más susceptibles y sufren modificaciones que podrían resultar en un aumento en el diámetro de los botones sinápticos, otra posible explicación es que la levodopa incrementa la producción de radicales libres, provocando en las células estrés oxidativo e induciendo su muerte (Jenner.1995).

Con respecto a la estructura postsináptica nuestros datos muestran que la lesión del estriado ipsilateral provocó pérdida de contactos sinápticos establecidos con las espinas dendríticas, los cuales son característicos de los contactos dopaminérgicos (Voorn y Bujis 1987). Estos datos concuerdan con los reportados por Avila-Costa y colaboradores en 1998, en donde reportaron 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. Forno y Norville (1979) en un estudio ultraestructural de cerebros de pacientes Parkinsonicos, reportaron que las sinapsis analizadas fueron principalmente axodendríticas y asimétricas, por lo que se consideran que hay pérdida de contactos simétricos con espinas. Asimismo Ingam y cols (1993) realizaron un estudio en animales lesionados con 6-OHDA y encontraron una disminución del 19 % en la densidad de espinas dendríticas. Una posible explicación es que la dopamina tiene una función neurotrófica

por lo que la dopamina es importante para el mantenimiento y supervivencia de la espina (Seroogy et al. 1994).

Por otra parte, en nuestros resultados en cuanto al número de sinapsis perforadas concuerdan con lo reportado por Calverley y Jones (1990) donde observó, en muestras de núcleo caudado de Pacientes con enfermedad de Parkinson un aumento en el número de contactos sinápticos perforados. Asimismo Avila-Costa en 1996, reporta que en animales depletados unilateralmente con 6-OHDA se produce un aumento en los contactos sinápticos perforados.

Una posible explicación es que el botón sináptico trata de compensar la pérdida de otras terminales, aumentando la densidad sináptica, observándose posibles mecanismos de plasticidad cerebral (Colín-Barenque et al. 2000). En un estudio realizado por Anglade y colaboradores (1996) en donde analizaron el núcleo caudado de pacientes con EP, los cuales recibieron tratamiento con levodopa, mostraron un incremento en la frecuencia de sinapsis perforadas (88% de incremento), y aumento de la densidad sináptica, comparado con el grupo control, y proponen que puede ser debido a un estado intermediario durante el proceso de división sináptica o bien las sinapsis perforadas pueden estar correlacionadas morfológicamente por el aumento de recambio de receptores en la densidad postsináptica, además sugieren que estos cambios sinápticos probablemente no son debidos al tratamiento con L-DOPA, ya que se han observado en ausencia de levodopa en animales con denervación dopaminérgica.

De acuerdo con nuestros resultados se puede confirmar que ante alguna agresión al sistema nervioso, se observa pérdida de espinas dendríticas (Avila-Costa, et al 1999; Fiala et al 2002), Se ha reportado que en la enfermedad de Parkinson existe una disminución en las espinas dendríticas de las neuronas estriatales que normalmente reciben proyecciones dopaminérgicas, mas aún similares efectos se han observado en animales con lesión de la vía nigroestriatal, (Patt et al. 1991).

Una posible explicación de dicha perdida puede ser debida a que como ya se mencionó, la 6-OHDA y la levodopa producen estrés oxidativo y en presencia de éste, se produce un aumento de las concentraciones de Ca^{2+} intracelular, lo cual ocasiona daño y muerte neuronal

(Leist y Nicotera, 1999) y como se ha reportado, las espinas son compartimientos individuales de Ca^{2+} (Cowan et al. 1998; Helmchen, 2002) y probablemente al perderse la espina disminuirían las concentraciones Ca^{2+} intracelular y se protegería la célula (Segal 1995).

Otra posible explicación es que la espina dendrítica actúa como un mecanismo compensatorio para evitar la muerte por exitotoxicidad (Segal; 1995), ya que al disminuir el número de espinas se reduce la posibilidad de contactos sinápticos y con esto la posible hiperexcitabilidad (Cavazos, 1991). También se ha propuesto que la pérdida de espinas se deba a la falta de capacidad de la célula para mantener la homeostasis (Dykens, 1999).

En cuanto al número de neuronas inmunorreactivas a tirosina hidroxilasa se observó una disminución, al depletar la vía nigroestriatal, asimismo nuestros resultados concuerdan con los de Demier y colaboradores (1999) quienes realizaron un estudio sobre la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la SNc, en donde encontraron que los pacientes con enfermedad de Parkinson. presentaron una reducción de neuronas dopaminérgicas de hasta 95% dependiendo del tiempo de evolución clínica. Y en animales con lesión nigroestriatal muestran una reducción significativa del número de neuronas dopaminérgicas en el área ventral tegmental (Blunt et al. 1993; Muerer 1998) e incremento en la peroxidación de lípidos en el estriado (Ogawa et al. 1994).

Ahora bien como ya se mencionó, en el metabolismo de la L-dopa a dopamina se generan radicales libres por medio de la MAO-B (Cassarino y Bannet, 1999), por lo que se ha sugerido que la pérdida neuronal puede ser a causa de mecanismos de oxidación, ya que existe una amplia evidencia de que la levodopa y la dopamina reducen la supervivencia de las células dopaminérgicas en cultivo (Michel y Heftil 1990; Walkinshaw y Waters 1995), este efecto disminuye de forma significativa si se añade al medio de cultivo antioxidantes o proteína ácida fibrilar glial (GFAP). Estos datos sugieren que la toxicidad de la levodopa estaría ligada a un exceso de producción de radicales libres (Mena et al 1993; Mena et al 1996).

También se ha propuesto que el resto de las neuronas dopaminérgicas en el cerebro de pacientes con EP puede ser particularmente vulnerable a la toxicidad de la levodopa, lo cual involucra un proceso degenerativo en pacientes que recibieron tratamiento, por lo que estas

observaciones sugieren que la levodopa puede acelerar el proceso degenerativo en pacientes con la EP (Ferrairo, et al 2003; Zigmond et al. 1992).

Otra posible explicación, es que la estimulación crónica de los receptores dopaminérgicos pueden contribuir a el desarrollo de complicaciones motoras en el tratamiento a largo plazo con levodopa sugiriéndose la hipótesis que la estimulación de estos receptores en las neuronas GABAérgicas eferentes, pueden aumentar la activación de receptores NMDA lo cual hace mas sensible a las aferencias glutamatergicas corticoestriatales y por tanto la célula puede morir por excitotoxicidad (Cepeda et al. 1993).

Camp y cols (2000) realizaron un estudio para determinar si la administración in vivo aguda o repetida de L-DOPA, causa producción de radicales hidroxilo en estriado, cerebelo y cerebro medio en rata lesionada unilateralmente con 6-hidroxidopamina, en la vía dopaminérgica nigroestriatal, y encontraron que la administración constante y en altas dosis (50mg /kg i.p una vez al día por 16 días) no induce la formación de radicales hidroxilo, y de acuerdo a sus resultados no están de acuerdo con la hipótesis de que la L-DOPA conduce al estrés oxidativo, si no que puede ser tóxica debido a otros mecanismos como por ejemplo:

- a) La L-dopa puede inducir daño oxidativo por depleción del GSH (Glutación reducido) (Spencer et al. 1995),
- b) Potenciar excitotoxicidad (Onley et al. 1990).
- c) Inhibir la respiración mitocondrial (Cooper et al. 1995).
- d) Las altas concentraciones de fierro en ganglios basales y la presencia de la melanina en las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales en humanos, puede promover la formación de radicales hidroxilo por la reacción de Fenton (Connor and Benkovic, 1992)

También se ha propuesto que la L-DOPA habilita o incrementa los niveles de la GSH en neuronas dopaminérgicas (Han et al. 1996) y puede contribuir a ejercer un efecto antioxidante antes que prooxidante, bajo ciertas condiciones.

Finalmente es importante hacer hincapié en las alteraciones que se observaron en el estriado contralateral a la lesión, las cuales consistieron en el incremento del tamaño del botón sináptico, disminución de contactos con espina dendrítica, aumento en las sinapsis perforadas y disminución de neuronas inmunoreactivas a TH; ya que algunos autores lo utilizan como lado control, y de alguna manera el daño inducido en el lado ipsilateral es reflejado también en el lado contralateral, una posible explicación es que existe una vía dopaminérgica del 5% al 10% que proyecta al estriado ipsi y contralateral (Loughlin y Fallon, 1982). Entonces la lesión unilateral con 6-OHDA podría provocar alteraciones a través de la pequeña vía que proyecta al estriado contralateral, por lo que no puede ser tomado como lado control.

CONCLUSIÓN

De acuerdo con nuestros resultados podemos decir que:

- ☺ La degeneración neuronal provocada por la 6-OHDA se caracterizó por aumento en el diámetro de los botones sinápticos, disminución de contactos con espinas dendríticas, aumento en el número de contactos perforados y disminución de las neuronas dopaminérgicas de la SNc.

- ☺ El tratamiento con L-DOPA no protegió las alteraciones inducidas por la 6-OHDA, probablemente debido a que la L-DOPA, como se ha reportado, incrementa la producción de radicales libres provocando en las células estrés oxidativo y la consecuente muerte neuronal.

- ☺ El lado contralateral a la lesión también sufre alteraciones debido probablemente a una vía cruzada.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alanis, Q.M. (1996). Historia natural de la Enfermedad de Parkinson. En -Otero-Siliceo. 1996. . Parkinson enfoque al futuro. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Fondo de Cultura Económica. México.11-17.
- Albin, R.L; Young, A.B y Penney , J:B. (1989). The functional anatomy of basal ganglia disorders.TINS.12,10 366-375.
- Alexander, G. Y Crutcher, H, M.D. (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: Neural substrates of parallel processing. TINS 137. 266-271.
- Alexi, T; Borlongan, C.V; Faull, R.L.M; Williams,C.E; Clark, R.G; Gluckman, P.Dand Hughes, P.E. (2000). Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson´s and Huntington´s disease. Progress in Neurobiology 60: 409-470.
- Anaya, M. V. (1997). Estudio morfofuncional comparativo entre los trasplantes de medula adrenal colocados en el ventrículo lateral o en el parenquima estriatal. Tesis para obtener el grado de maestría en neurociencias. ENEP-Iztacala .UNAM.
- Anglade, P; Mouatt-Prigent, A. and Agid,Y. (1996). Synaptic plasticity in the caudate nucleus of patients with Parkinson´s disease. Neurodegeneration 5:121-128
- Angulo, J.A. and McEwen, B.S. (1994). Molecular aspects of neuropeptide regulation and function in the hábeas striatum and nucleus accumbens. Brain Res.Rev. 19: 1-28
- Appel, S.H. (1981). A unifying hypothesis for the cause of amyotrophic lateral sclerosis, Parkinsonism, and Alzheimer disease. Ann Neural 10: 499-505. En: Otero-Siliceo. (1996). Parkinson enfoque al futuro. Fondo de Cultura Económica México. Pág 25-32.
- Arbuthnott, G.W. and Ingham, C.A. (1993). The thorny problem of whatdopamine does in psychiatric disease. En: Arbuthnott, G.W. y Mesón, P.C. (eds.) Progress in Brain Research, vol. 99 Elsevier Science Publishers B.V. p. 341-350.
- 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-hidroxidopamina. Tesis para obtener el grado de Maestría en Neurociencias. ENEP-Iztacala. UNAM.
- Avila Costa, M.R. Colin, B,L; Espinosa,V:J. Y Machado,S:J. (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. México. 36:297-301.

- Avila Costa, M.R; Colín-Barenque, L.Fortoul. T.L. Machado-Salas, J.P: Espinosa-Villanueva, J;Rugiero-Vargas, C y Rivas Arancibia, S. (1999). Memory deterioration in an oxidative stress model and its correlation with cytological changes on rat hippocampus CA1. *Neuroscie. Lett*, 270: 107-109
- Barbeau, .(1981). High-level levodopa therapy in severely akinetic parkinsonian patients twelve years later. En: *Parkinson's disease: current progress, problems and management*. Rinne, V.K; Klinger, M;Stamm, G. (eds.) Elsevier, Amsterdam.229-239.
- 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.
- Blunt, S.B; Jenner, P. and Marsden, C.D. (1993). Supressive effect of L-DOPA on dopamine cells remaining in the ventral tegmental area or rats previously exposed to the neurotoxin 6-hidroxydopamine. *Mov Disord.* 8: 129-133.
- Bolam ,J:B; Somogyi, P; Totterdel, S. and Smith,A.D. (1981). A second type of striatonigral neuron: a comparison between retrogradely labeled and golgi stained neurons at the light and electron microscopic levels. *Neuroscience* 6(11);2141-2152.
- Brailowsky, S; García, M.M. (1996). En: *Otero-Siliceo. Parkinson enfoque al futuro*. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Fondo de Cultura Económica. México. Pág 209-236.
- Braak, H y Braak, E. (1982). Neuronal types in the striatum of man. *Cell Tissue Res.* 227: 319-342.
- Calabrasi, P; Mercuri, N.B; Sancesario, G. And Bernardi, G. (1993). Electrophysiology of dopamine-denervated striatal neurons. Implications for Parkinson's disease. *Brain.* 116, 433-452.
- Calne, D.B. y Langston, J.W. (1983). Etiology of Parkinson's disease *Lancet* 2: 1457-1452. En *Otero-Siliceo. 1996. Fondo de Cultura Economica. México. pp25-33.*
- Calverley R.K. and Jones D.G. (1990). Contributions of dendritic spines and perforated synapses to synaptic plasticity. *Brain Res Rev* 15:215-249. En: Anglade, P; Mouatt-Prigent, A. and Agid,Y. (1996). Synaptic plasticity in the caudate nucleus of patients with Parkinson's disease. *Neurodegeneration* 5:121-128
- Camp, M.D; Loeffler D.A and LeWitt, P.A. (2000). L-DOPA Does Not Enhance Hydroxyl radical formation in the nigrostriatal dopamine system of rats with a unilateral 6-hydroxidopamine lesion *J. Neurochem.* 74, 1229-1240
- Carpenter, M.B. (1976). Anatomical organization of the corpus striatum and related nuclei. En *Melvin, D y Yahr, M.D (eds). The basal ganglia*. Reven Press, N.Y.

- Carpenter, B.M. (1981). Anatomy of the corpus striatum and brain stem integrating system. En: Brooks, V. (eds). Hand book 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. En: Montiel Flores, E. (2001). Efecto de la bromocriptina sobre la ultraestructura del núcleo caudado de rata expuesto a un modelo de enfermedad de Parkinson con 6-OHDA, Tesis para obtener el grado Maestro en Neurociencias. ENEP-Iztacala. UNAM.
- Cavazos, J.E; Golarai, G; y Sutulo, T:P. (1991). Mossy fiber synaptic reorganization induced by kindling: time course of development progression and permanence J. Neurosci, 11:279-2803.
- Cepeda, C; Buchwald, N.A. and Levine, M.S. (1993). Neuromodulatory actions of dopamine in the neostriatum arte dependent upon the excitatory amino acid receptor subtypes activated. Proc Natl Acad Sci USA. 90: 9576-9580. En: Furlanut, M; Furlanut, J.R. and Benetelo, P. (2001). Monitoring of L-DOPA concentrations in Parkinson's disease. Pharmacological Research 43 (5): 423-427
- Chang , H:T y 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.
- Chang, H.T; Wilson, C.J. y Kitai, S.T. (1982a). Single neostriatal efferent axons in the globus pallidus: A light and electron microscopic study. Science 213:918-918.
- Chesselet, M.F. and Graybiel, A.M. (1986). Striatal neurons expressing somatostatin-like immunoreactivity: evidence for peptidergic interneuronal system in cat. Neuroscience 17: 547-571.
- Clark, D. And White, F.J. (1987). D₁ dopamine receptors the search for a function. Synapse 1: 347-388.
- 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 de Maestria en Neurociencias. ENEP Iztacala UNAM.
- Colín-Barenque L; Avila-Costa. M:R; Espinosa-Villanueva J y Machado-Salas J. (2000). Análisis ultraestructural comparativo en pacientes con enfermedad de Parkinson y ratas viejas. Arch Neurocién Vol.5 No.4:168-173
- Connor, J.R and Benkovic, S.A. (1992). Iron regulation in the brain: histochemical, biochemical, and molecular considerations. Ann. Neurol. 32(Suppl.) S51-S61. En: Camp, M.D; Loeffler D.A and LeWitt, P.A. (2000). L-DOPA Does Not Enhance Hydroxyl radical formation in the nigrostriatal dopamine system of rats with a unilateral 6-hydroxidopamine lesion J. Neurochem. 74, 1229-1240.

- Cooper, J.M; Daniel, S.E; Marsden, C.D. and Schapira, A. H.V. (1995). L-Dihydroxyphenylalanine and complex I deficiency in Parkinson's disease brain. *Mov. Disord.* 10, 295-279. En: Camp, M.D; Loeffler D.A and LeWitt, P.A. (2000). L-DOPA Does Not Enhance Hydroxyl radical formation in the nigrostriatal dopamine system of rats with a unilateral 6-hydroxidopamine lesion *J. Neurochem.* 74, 1229-1240.
- Coté, L. Y Crutcher, M.D. (1991). Motor functions of the basal ganglia and diseases of transmitter metabolism. En: Kandel, E.R. Schwartz, J.H. y Jessell, T.M. (eds). *Principles of neural science.* Elsevier, U.S.A.
- Cowan, A.I.; Stricker, L.J; Reece, S.J. and Redman. (1998). Long-term plasticity at excitatory synapses on spinous interneurons in area CA1 lacks synaptic specificity. *J. Neurophysiol.* 79: 13-20. En: Fiala, J.C; Spacek, J. and Harris, K.M. (2002). Dendritic Spine pathology: cause or consequence of neurological Disorders? *Brain Research Review.* 39.29-54.
- Crossman, A.R. (1990). A hypothesis on the pathophysiological mechanisms that underlie levodopa-or dopamine agonist-induced dyskinesia in Parkinson's disease implications for future strategies in treatment. *Movement Disord.* 5: 100-108.
- Davies, J. Y Dray, A. (1976). Substance P in substantia nigra. *Brain Res.* 107:623-627.
- Demier P; Hirsch E:C; Agid Y; Graibel A:M, (1999). Discinesias inducidas por dosis pico de L-dopa en pacientes con enfermedad de Parkinson: una aproximación clínico farmacológico. *Brain.* 1437-1448
- DeLong, M.R. and Georgopoulos, A.P. (1981). Motor Functions of the basal ganglia. En: Brookhard, J; Mounscatle, V.B; Brooks, V.B. y Geiger, S.R. (eds) *Handbook of physiology.* American Physiological Society.
- DeLong, M.R. (1990). Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *TINS,* 13, 281-285.
- Demier P; Hirsch E:C; Agid Y; Graibel A:M, (1999). Discinesias inducidas por dosis pico de L-dopa en pacientes con enfermedad de Parkinson: una aproximación clínico farmacológico. *Brain.* 1437-1448.
- Dewar, D; Jenner, P. y Marsden, C. (1987). Effects of opioid agonist drugs on the in vitro release of [³H] GABA [³H] Dopamine and [³H]5-Ht from slices of rat globus pallidus *Biochem, Pharmacol.* 36: 1738-1741.
- 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 and Consolo, S. (1994). Modulatory function of neurotransmitters in the striatum: Ach/dopamine/NMDA interactions. *TINS,* 17(6).

- DiFiglia, M; Aroni, N y Martín, J.B. (1982) Light and electron microscopic localization of immunoreactive Leu-enkefalin in the monkey basal ganglia. *Neurosci.* 5:1581-1596.
- Dravid, A; Jatón, A.L; Enz, A. 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.C. (1987). To Treat Early or to Treat Late?. *Ann. Neurol.* 22: 2-3. En Otero-Siliceo. 1996. Fondo de Cultura Económica. México. pp 25-32.
- Dykens, J.A. (1999). Free radical and mitochondria dysfunction in excitotoxicidad and neurodegenerative disease, En Kiolastos, E.V. and Ratan, R.R (eds). *Cell death and disease of the nervous system.* Humana Press, New jersey. Pp. 45-69.
- Elizan, T.S y Casals J. (1983). The viral hypothesis in Parkinsons. *J. Neurol Transm Suppl* 19: 75-88. En Otero-Siliceo. 1996. Fondo de Cultura Económica. México pág 25-32.
- Ferrario, J.E; Delfina, M. A; Stefano, A V.; Zbarsky, V, Douhou, A; Murer, M.G; Raciman-Vozari, R and Gershanik, O.S. (2003). Effects of orally administered levodopa on mesencephalic neurons undergoing a degenerative process. *Neuroscience Research.* I-6.
- Fiala, J.C; Spacek, J. and Harris, K.M.(2002). Dendritic Spine pathology: cause or consequence of neurological Disorders? *Brain Research Review.* 39:29-54.
- Fornaguera, J; Schwarting, R.K.W; Broix, 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. and Norville, R.L. (1979). Ultrastructure of the neostriatum in Huntington's and Parkinson's disease. *Advances in Neurology.* 23; 123-135.
- Fox, C.A; Andrade. A.N; Schwyn, R.C and Rafols, S.J.A. (1971). Computer measurements of axis cylinder diameters of radial fibers and "com" bundle fibers. *Comp. Neurol.* 159:201-224.
- Fox, C.A; Rafols, J.A; Cowan, W.M. (1975). Computer measurements of axis cylinder diameters of radial fibers and "comb" bundle fibers. *Comp. Neurol.* 159; 201-224.
- Freeman, B.A y Crapo, J.D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab, Investigation.* 47:412-426 En: Avila-Costa, M.R. (2001). Efecto de la taurina en el sistema nervioso de la rata expuesto a un modelo de estrés oxidativo producido por ozono: Análisis Morfológico-Bioquímico y su relación con la conducta. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de ciencias UNAM. Mexico D.F. p 89.
- Freud, T.F; Powel, J.F. and Smith, A.D. (1984). Tyrosine hydroxylase-immunoreactive boutons in synaptic contact with identified striatonigral neurons, with particular reference to dendritic spines. *Neuroscience* 13:1189-1215. En: Ingham, C.A; Hood, S.D; Taggart and Aarbutthnott,

G.H. (1998). Plasticity of synapse in the rat neostriatum after unilateral lesion of the nigrostriatal dopaminergic pathways. *Journal of Neuroscience*. 18(12):4732-4743

- García-Minet, R.; Alberti-Amador, E. and Castellano-Ortega, M:R. (2003). Terapia genica *ex vivo* en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. *Neurol*. 36(11): 1073-1077.

- Gerfen 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). D1 y D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science*. 250:1429-1431.

- Gerfen, C.R. (1992). D₁ and D₂ dopamine receptor regulation of striatonigral and striatopallidal neurons, seminars in *The Neurosciences*. 4(2): 109-119.

- Gibb, W.R.C. y Lees, A.J. (1991). Anatomy, pigmentation ventral and dorsal substantia nigra, and differential cell death in Parkinson's disease. *J Neurol. Neurosurg Psych*. 54, 388-396.

- Gilman y Winans, N.S. (1994). Principios de neuroanatomía y neurofisiología clínica de Monter y Gatz. El manual moderno. 3^a Edición. México. D.F. pág 183-192.

- Gingrich, J.A. and Caron, M.G. (1993). Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annu.Rev.Neurosci*. 16:299-321.

- Glinka, Y; Tipton, K.F. and Youdim, M.B.H. (1998). Mechanism of inhibition of mitochondrial respiratory complex 1 by 6-hydroxydopamine and its prevention by desferrioxamine. *Eur. J. Pharmacol*. 35: 121-129. En: Soto-Otero, R; Méndez-Alvarez, E; Hermida-Ameijeiras, A; Muñoz-Patiño; A.M. y Labandeira-García, J.L. (2000). Autoxidation and neurotoxicity of 6-hydroxydopamine in the presence of some antioxidants: Potential implications in relation to the pathogenesis of Parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry* 74(4): 1605-1612.

- Golbe, Li, Di Lorio, G y Bonavita, V. (1990). A large kindred with autosomal dominant Parkinson's disease. *Ann Neurol* 27: 276-282. En Otero-Siliceo. 1996. Fondo de Cultura Económica. México pág 25-32Z

- Graybiel, A.M. (1990). The basal ganglia and the initiation of movement. *Res. Neurol*. 146(10):570-574.

- Gravenland, G; Williams, R:S. and DiFiglia, M. (1985). A Golgi study of the human neostriatum neurons and afferent fibers, *J.Comp. Neurol*. 234: 317-333

- 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.

- Grutzendler, J. Kasthuri, N. and Wen-Blao. (2002). Long-Term dendritic spine stability in the adult cortex. *Nature*. 420: 19-26.
- Han, S. K; Mytilineou, C. And Cohen, G. (1996). L-DOPA up-regulates glutathione and protects mesencephalic cultures against oxidative stress. *J. Neurochem*. 66, 501-510. En: Camp, M.D; Loeffler D.A and LeWitt, P.A. (2000). L-DOPA Does Not Enhance Hydroxyl radical formation in the nigrostriatal dopamine system of rats with a unilateral 6-hydroxidopamine lesion *J. Neurochem*. 74, 1229-1240.
- Hanson, M.R; Galvez-Jiménez, N. (2001). Catechol-O-metyltransferasa in hibitors in the management of Parkinson´s disease. En: Segura, T. Galindo, M.F; Rallo-Gutiérrez, B; Ceña, V. Y Jordán, J- (2003). *Dianas farmacológicas en las enfermedades neurodegenerativas*. *Neurol*. 36(11): 1047-1057.
- 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.
- Helmchen-Fritjof. (2002). Raising the speed limit-fast Ca²⁺ handling in dendritic spines. *TRENDS in Neuroscience*. 25(9): 438-441.
- Herrera-Marschitz, M; Christensson-Nylander, I; Sharp, T. Staines, W; Reid, M; Hokfeit, T; Terenjus, L. Y Ungersted, U. (1986). Striato-nigral dinorphins and substance P in the rat. *Exp. Brain Res* 64:193-207.
- 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*. *Ciencias*. 44: 455-472.
- Hoehn, M.M. and Yahar, M.D. (1987). Parkinsonism onset, progresion and mortality. *Neurology*, 17, 427-442. En Otero-Siliceo. 1996. *Parkinson enfoque al futuro*. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Fondo de Cultura Económica. México. Cap: I.
- Hornikiewickz, O. (1966). Dopamine (3-hydroxytyramine) and brain function. *Pharmacol. Rev*. 18:925-964.
- Horwitz, B. (1981). Neuronal plasticity: how changes in dendritic architecture can affect the spread of postsynaptic potentials. *Brain Research*. 224: 412-418.
- 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 ropinirone, a dopamine agoinst. *Brain Research*. 838: 51-59
- Ingham, C.A; Hood, S.D; Taggart and Aarbuthnott, G.H. (1991). A light and electron microscopicalstudy 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.D; Van Maldegem, B; Weenink, A. Arbuthnott. G. (1993). Morphological changes in the rat neostriatum after unilateral lesion of the dopaminergic nigrostriatal pathway, a morphological study. *Exp Brain Res* 116:39-49. En Ingham, C.A; Hood, S.D; Taggart and Arbuthnott, G.H. (1998). Plasticity of synapse in the rat neostriatum after unilateral lesion of the nigrostriatal dopaminergic pathways. *Journal of Neuroscience*. 18(12):4732-4743
- Jackson, M.D; Owen, F.J and Ross, B.S. (1988). The motor effects of Bromocriptine a review. *Psychopharmacology* 95: 433-446.
- Jenner, P. (1995). The rationale for the use. Or dopaminergic agonists in Parkinson's disease. *Neurology* 45 (Suppl 3): S6-S12.
- Jenner , P.G and Olanow, C.W. (1996). Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurology* 47(6, suppl.3): S161-S1170. En: Barzilai,A; Melamed. E. And Shirvan, A. 2001. *Cellular and Molecular Neurobiology* . 21(3): 215-235.
- Jimenéz-Jimenéz, F.J: Ortí-Pareja, J.A. y Molina-Arjona. (1998). Alteraciones mitocondriales en las enfermedades neurodegenerativas. *Revista de Neurología*. 26:112-117.
- Jimenéz-Jimenéz, 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.
- John, C, F; Josef, S. and Cristen. M.H. (2002). Dendritic spine pathology; Cause or consequence of neurological disorders? *Brain Reserch Review*. 39; 29-54-
- Kawaguchi, Y; Wilson, C.J. Augood, S.J. and Empson ,P.C. (1995). Striatal interneurons: chemical, psysiological and morphological characterization. *TINS* 18(12): 527-535.
- 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.
- Kondo, T.; Ito, T. And Sugita, Y. (1994) Bromocriptine scavenges methamphetamine-induced hydroxyl radicals and attenuateds dopamine depletion in mouse striatum. *Neurobiology*. 738: 222-229.
- Lange, K.W. (1994) Neuroprotection by dopamine agonists, *J. Neural Transsm. (Supplementum)*. 43: 183-201.
- Langston, J. W; Ballard, P.A y Tetrud, J.W. (1983). Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine analog synthesis. *Science* 219: 979-980. En Otero-Siliceo. (1996). *Parkinson enfoque al futuro*. Instituto Nacional de Neurologia. Fondo de Cultura Económica. México pp 25-32.
- Lees, A.J. (1991). Selegiline hydrochloride and Cognition. *Acta Neurol, Scand*, 84 Suppl, 136: 91-94.

- Leist, M. y Nicotera, P. (1999). Calcium and cell death. En: e.V, Koliastos y R.R. Ratan (eds) cell death and disease of the Nervous System. Humana Press. New jersey. 69-91.
- Lescaudron, L; Jaffard, R.. and Verna, A. (1989). Modifications in number and morphology of dendritic spines resulting from chronic ethanol consumption and withdrawal: A Golgi study in the mouse anterior and posterior hippocampus. *Exp. Neurol.*106: 156-163.
- Levitt, M; Spector, S; Sjoerdsma, A. And Udenfriend, S. (1965). Elucidation of the rate-limiting step in norepinephrine biosynthesis in the perfused guinea-pig heart. *J Pharmacol.* 23: 1493-1493-501. En: Bahena-Trujillo, R; Flores, G; Arias-Montaña, J.A. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Biomed.* 11:39-60.
- Luo, Y. and Roth, G. (2000). The roles Dopamine oxidative stress and dopamine receptor signaling in aging and age-related neurodegeneration. *Antioxidants & Redox Signaling.*2(3)
- Loughlin, S.E. y Fallon, J.J. (1982). Mesostriatal projection from ventral tegmentum and dorsal raphe: cell project ipsilaterally but not bilaterally. *Neuroscience Letters.* 32;11-16. En: Manzano-Leon, N. (1998). Efecto de la administración crónica de la L-DOPA sobre la coordinación motora y el arreglo ultraestructural del núcleo caudado en rata con denervación unilateral de la vía dopaminérgica nigro-estriatal. Tesis para obtener el grado licenciatura. ENEP-Iztacala. UNAM
- Luquin, MR; Saldise, L. (1997). Sistema dopaminérgico y muerte neuronal. *Rev Neurol;* 25:S129-40.
- Luquin, M:R. (2000). Modelos experimentales de Enfermedad de Parkinson. *Neurología* ;31(1);60-66.
- MacCord, J.M. (1985). Oxygen-derived free radicals in postischaemic tissue injury. *N.Engl. J. Med.* 312; 159-163.
- McDowell. F.H; y Cerdabaum, J.M, (1982). Natural history of Dopa treated Parkinson's disease: 18 years follow-up. *Neurology.* N.Y; 32.514-538. En: Otero-Siliceo. (1996). Parkinson enfoque al futuro. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Fondo de Cultura Económica. México
- Mena, M.A; Pardo, B and Paino, C.L. (1993). Levodopa toxicity in foetal rat midbrain neurons in culture: modulation for ascorbic acid. *Neuroreport.* 4: 438-440. En Camp, M.D; Loeffler D.A and LeWitt, P.A. (2000). L-DOPA Does Not Enhance Hydroxyl radical formation in the nigrostriatal dopamine system of rats with a unilateral 6-hydroxidopamine lesion *J. Neurochem.* 74, 1229-1240
- Mena M.A, Casajeros, M.J. and Carazo A. (1996). Glía conditioned médium protects fetal rat midbrain neurons in culture from levodopa toxicity. *Neuroreport.* 7: 441-445. En: Camp, M.D; Loeffler D.A and LeWitt, P.A. (2000). L-DOPA Does Not Enhance Hydroxyl radical formation in the nigrostriatal dopamine system of rats with a unilateral 6-hydroxidopamine lesion *J. Neurochem.* 74, 1229-1240

- Michel P.P and Hefti, F. (1990). Toxicity of 6-hydroxydopamine and levodopa for dopaminergic neurons in vitro. *J Neurosci Res.* 26: 428-435.
- Mensah.P.L. (1980). Distribution of the largest neurons in mouse caudate-putamen nucleus: Its positions in large cell-medium cell clusters. *Exp. Brain Res.* 3: 267-271.
- Meshul, C.K; Cogen, J.P; Cheng, H.W; Moree, C; Krentz, L. and McNeill, T.H. (2000). Alterations in rat striatal glutamate synapses following a lesion of the cortico- and/o nigrostriatal pathway. *Experimental Neurology.* 65:191-206.
- Miller, R. Y Beninger, R.J. (1991). On the interpretation of as asymmetries of posture and locomotion produced with dopamine agonista in animals with unilateral depletion of striatal dopamine. *Progress in Neurobiology.* 36, 229-256.
- 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 riesgos para enfermedad de Parkinson: estudio poblacional. *Rev. Neurol.* 29(1): 12-15. En: Montiel Flores, E. (2001). Efecto de la bromocriptina sobre la ultraestructura del núcleo caudado de rata expuesto a un modelo de enfermedad de Parkinson con 6-OHDA, Tesis para obtener el grado Maestro en Neurociencias. ENEP-Iztacala. UNAM.
- Muerer, G; Dziewczapolski, G and Menalled. (1998). Cronic levodopa is not toxic for the remaining dopamine neurons, but instead promotes the recovery, in rats with moderate nigrostriatal lesion. *Ann Neurol.* 43, 561-575.
- Müller, W. Y Connor, J.A. (1991) .Dendritic spines as individual neuronal compartaments for synaptic Ca^{2+} response, *Nature* 354: 73-76.
- Muralikrishnan, D. Y Mohanakumar, P.K. (1998) Neuroprotection by Bromocriptine against 1-methyl-4phenil-1,2,3,6,-tetrahydropyridina neurotoxicity in mice. *J. FASEB.* Vol. 12: 905-912.
- Nagatsu, T; Levitt, M and Udenfriend, S. (1964). Tyrosine hidroxilase: the initial step in norepiephrine biosynthesis. *J .Biol Chem.* 239:2910-17. En: Bahena-Trujillo, R; Flores, G; Arias-Montaño, J.A. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Biomed.* 11:39-60.
- Nagatsu, T. (1981). Biopterin cofactor and regulation of monoamine-synthesizing mono-oxygenase. *Treds. Pharmacol Sci.* 2:276-9. En: Bahena-Trujillo, R; Flores, G; Arias-Montaño, J.A. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Biomed.* 11:39-60.

- Nombela-Merchan, F; Tormo-Ortiz, I y Galán Gutiérrez, T. (2002). Tratamiento farmacológico de la enfermedad de Parkinson. Revista de la Sociedad Madrileña de Medicina de Familia y comunitaria. 1(4). 38-42.
- O'Dowd, B.F. (1993). Structures of dopamine receptors. J. Neurochem. 60:804-816.
- Ogawa, N; Asanuma, M; Kondo, Y; Kawada, Y Yamamoto, M. And Mori, A. (1994). Differential effects of chronic L-DOPA treatment on lipid peroxidation in the mouse brain with or without pretreatment with 6- hydroxydopamine. Neurosci. Lett. 171, 55-58. En: Camp, M.D; Loeffler D.A and LeWitt, P.A. (2000). L-DOPA Does Not Enhance Hydroxyl radical formation in the nigrostriatal dopamine system of rats with a unilateral 6-hydroxidopamine lesion J. Neurochem. 74, 1229-1240.
- Ogawa, N. (1998) Early introduction of dopamine agonists in the long-term treatment of Parkinson's disease. Neurology. 51 (Suppl 2): S13-S20.
- Olanow, C.W and Tatton, W.G. (1999). Etiology and Pathogenesis of Parkinson's disease. Neurosci. 22:123-144.
- Onley, J;W; Zorumski, C.F; Stewart, G.R; Price, M.T; Wang, G and Labruyere, J. (1990). Excitotoxicity of L-DOPA and 6-OH-DOPA: implications for Parkinson's and Huntington's disease. Exp. Neurol. 108, 269-272. En: Camp, M.D; Loeffler D.A and LeWitt, P.A. (2000). L-DOPA Does Not Enhance Hydroxyl radical formation in the nigrostriatal dopamine system of rats with a unilateral 6-hydroxidopamine lesion J. Neurochem. 74, 1229-1240.
- Otero-Siliceo. 1996. Parkinson enfoque al futuro. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Fondo de Cultura Económica. México. Cap: I,II,III,IV,XIII,XIV.
- Parent, A. (1990). Extrinsic connections of the basal ganglia, TINS. 13,7: 254-258.
- Parent, A. and Hazrati, L.N. (1993). Anatomical aspects of information processing in primate basal ganglia. TINS. 18,3, 111-116.
- Parent, A. and Hazrati, L.N. (1995). Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortical-basal ganglia-thalamo-cortical loops. Brain Res. Rev. 20:91-127.
- Patt, S; Gertz, L; Gerhard, J, and Cervos-Navarro. (1991). Pathological changes in dendrites of substantia nigra neurons in Parkinson's disease: a Golgi study, Histol. 6:373-380. En: Fiala, J.C; Spacek, J. and Harris, K.M. (2002). Dendritic Spine pathology: cause or consequence of neurological Disorders? Brain Research Review. 39.29-54.
- Paxinos, G y Watson C. (1986). The rat brain in Stereotaxic Coordinates, 2nd edn. Academic Press, New York.
- Penit-Soria, J; Durand C; Herve, D and Besson M.J. (1997). Morfological and biochemical adaptations to unilateral dopamine denervation of the neostriatum in newborn rats. Neuroscience. 77(3): 753-766.

- 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.
- Playford, E.D; Jenkins, I.H; Passingham , R.E; Nutt, J; Frackowiak, R.S. and Brooks, D.J. (1992). Impaired mesial frontal and putamen activation in Parkinson's disease: a positron emission tomography study. *Ann Neurol* 32;151-161. En: Bjarkam, C.R; Sorensen, J.C; Sundler, N.A; Geneser, F.A and Ostergaard, k. (2001). New strategies for the treatment of Parkinson's disease hold considerable promise for the management of neurodegenerative disorders. *Biogerontology.* 2: 193-307.
- Polymeroulos, M.H; Lavedan, C; Leroy. E; Ide, S,A and Dehejia, A. (1997). Mutation in the α -synuclin gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276:2045-2047. En: Olanow, C.W and Tatton, W.G. (1999). Etiology and Pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurosci.* 22:123-144.
- Qin, Z.H; Chen,J.F. y Weiss,B. (1994). Lesions of mouse striatum induced by 6-hydroxidopamine differentially alter the density, rate of synthesis, and level of gene expression of D1 and D2 dopamine receptors. *J. Neurochem.* Raven Press, N.Y. pp. 411-420.
- Radja, F; El Masnari, M; Soghomonian, J.J; Descarries, L. (1993). Changes of D1 and D2 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 Hilter, 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; Hôkfelt, T; lindefors, N; Persson, H. Ungerstedt, U. (1990). Striato nigral GABA, dinorphin, substance P and neurokinin A modulation of nigrostriatal dopamine release: evidence for direct mechanisms. *Exp. Brain Res.* 82: 293-325.
- Rodrigez, M.C; Obeso, J.A. and Olanaw, C.W. (1998). Subthalamic nucleus-mediated excitotoxicity in Parkinson's disease: A target for neuroprotection. *Ann Neurol.* 44(1);175-188. En: Bjarkam, C.R; Sorensen, J.C; Sundler, N.A; Geneser, F.A and Ostergaard, k. (2001). New strategies for the treatment of Parkinson's disease hold considerable promise for the management of neurodegenerative disorders. *Biogerontology.* 2: 193-307.
- Robbins, J.H; Otsuko F y Tarone, R.E. (1985). Parkinson's disease and Alzheimer's disease. Hypersensitivity to X- rays in cultures cell lines. *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 48: 916-923. En Otero-Siliceo. (1996). Fondo de Cultura Económica. México pp 25
- Sauer, HoertelW.H. (1994). Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesion with 6-hydroxydopamine a combined retrograda tracing and inmunocytochemical study en rat. En: Luquin, M:R. (2000). Modelos experimentales de Enfermedad de Parkinson. *Neurología* ;31(1);60-66.

- 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.
- Secretaría de Salud. (2001). <http://www.salud.gob.mx>
- Segal, M. (1995). Dendritic spines for neuroprotection; hypothesis TINS. 18(11): 468-471. En: Fiala, J.C; Spacek, J. and Harris, K.M. (2002). Dendritic Spine pathology: cause or consequence of neurological Disorders? Brain Research Review. 39:29-54.
- Segura, T. Galindo, M.F; Rallo-Gutiérrez, B; Ceña, V. Y Jordán, J. (2003). Dianas farmacológicas en las enfermedades neurodegenerativas. Neurol. 36(11): 1047-1057.
- Schiller, J- Schiller, Y. y Clapham, D.E. (1998). NMDA receptors amplify calcium influx into dendritic spines during associative pre-and postsynaptic activation. Nat Neurosci 1:114-118.
- Schwab, R.S; England, A,C.Jr. y Poskanzer. D.C. (1969). Amantidine in the treatment of Parkinson's disease. JAMA 208:1168 1170.
- Seroogy, K.B; Lundgren, K.H; Tran, T.M.D; Guthrie, K.M, Isackson, P.J, and Gall, C.M. (1994). Dopaminergic neurons in rat ventral midbrain neurotrophic-3 mRNAs. J Comp Neurol 342:321-334. En Ingham, C.A; Hood, S.D; Taggart and Aarbutnott, G.H. (1998). Plasticity of synapse in the rat neostriatum after unilateral lesion of the nigrostriatal dopaminergic pathways. The Journal of Neuroscience. 18(12):4732-4743.
- Shepherd, G.M. (1996). the dendritic spine,: A multifunctional integrative unit. J. Neurophysiol. 75(6): 2197-2210.
- Shimohama, S; Sawada, H; Kitamura, Y and Taniguchi, T. (2003). Disease model: Parkinson's disease. TRENDS in Molecular Medicine. 9(8):360-365.
- Schiller, J- Schiller, Y. y Clapham, D.E. (1998). NMDA receptors amplify calcium influx into dendritic spines during associative pre-and postsynaptic activation. Nat Neurosci 1:114-118.
- Schwab, R.S; England, A,C .Jr. y Poskanzer. D.C. (1969). Amantidine in the treatment of Parkinson's disease. JAMA. 208:1168 1170.
- 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, 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.
- Somogyi. P; Bolam, J.P y Smith; D.A. (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.

- Soto-Otero, R; Méndez-Alvarez E; Hermida-Ameijeiras A; Muñoz-Patiño A:M; and Labandeira-García J.L. (2000). Autoxidation and neurotoxicity of 6-Hidroxi-dopamine in the presence of some antioxidants. Potential implication in relation to the pathogenesis of Parkinson's disease. *J. Neurochem* 74:1605-1612

- Spacek, J. (1985) Three-dimensional analysis of dendritic spines. II. Spine apparatus and other cytoplasmic components. *Anat. Embryol.* 171; 235-243. En: Fiala, J.C; Spacek, J. and Harris, K.M.(2002). Dendritic Spine pathology: cause or consequence of neurological Disorders? *Brain Research Review.* 39:29-54.

- Spacek, J. Y Harris, K.M. (1997). Three-dimensional organization of smooth endoplasmic reticulum in hippocampal CA1 dendrites and dendrites spines of the immature and mature rat. *Neurosci.* 17; 190-203.

- Spencer, J.P.E; Jenner, P; and Halliwell, B. (1995). Superoxide dependent depletion of reduced glutathione by L-DOPA and dopamine: relevance to Parkinson's disease. *Neuroreport* 6. 1480-1484. En: Camp, M.D; Loeffler D.A and LeWitt, P.A. (2000). L-DOPA Does Not Enhance Hydroxyl radical formation in the nigrostriatal dopamine system of rats with a unilateral 6-hydroxi-dopamine lesion *J. Neurochem.* 74, 1229-1240.

- Stocchi, F. y Olanow, C.W. (2003). Neuroprotection in Parkinson's disease: Clinical trials. En Segura, T. Galindo, M.F; Rallo-Gutiérrez, B; Ceña, V. Y Jordán, J. (2003). Dianas farmacológicas en las enfermedades neurodegenerativas. *Neurol.* 36(11): 1047-1057.

- Tanaka, D. (1980). Development of spiny and aspiny neurons in the caudate nucleus of the dog during the first postnatal month, *Comp. Neurol.* 192:247-253.

- 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.

- Tretiakoff, C. (1919). En: García Hernández, F. Y Maseieu-Trigo, L. (1993). Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson; Avances teóricos y experimentales. *Ciencias.* 44: 455-472.

- Ungerstedt, U. (1968). 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoaminergic neurons. *Eur. J. Pharmacol.* 5, 107-110.

- Ungerstedt, U. and Arbuthnott, G.F. (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. (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

- Voorns, P. y Bujis, R.M. (1987). Ultrastructural demonstration of dopamine in the central nervous system, En, Steinbusch, H. W.M. (eds.) Monoaminergic neurons: light microscopy and ultraestructura. John Wiley y Sons.
- Voorns, P; Roest, J. and 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 lesion. *Brain Res.* 412;391-396
- Walkinshaw, G and Waters, C.M. (1995). Induction of apoptosis in catecholaminergic PC12 cells by L-DOPA, implications for the treatment of Parkinson's disease. *J Clin Invest.* 95, 2458-2464.
- Weiner, J.W. (1999). The initial treatment of Parkinson's disease should begin with levodopa, *Movement Disorders.* 14(5): 716-724.
- Wichmann, T. y DeLong, M.R. (1993). Pathophysiology of Parkinsonian motor abnormalities. 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. y Groves, P.M. (1980). Fine structure and synaptic connections of common spiny neuron of the rat neostriatum: A study employing intracellular injection of horseraish peroxidase. *J: Comp. Neurol.* 194: 599-615
- Wilson, J.C. (1998). the basal ganglia, In: GordonM. Shepard (Ed). *The synaptic organization of the brain.* Fourth Eddition. Oxford University Press.New York.pp;329-375.
- Winn, P. (1991). Exitotoxins as tools for producing brain lesions. En : Conn, P.M (comp) *Lesions and transplants. Methods in neurosciences.* Vol. 7 Academicx Press, Inc.
- Wolters, CH. E; Tissing, G, Bergmans. L.M. y Kuiper, M. (1995) Dopamine agonista in Parkinson's disease. *Neurology (Suppl 3): S28-S34.*
- Wooten,F.G; (1990). Biochemical basis for levodopa therapy. En: *Therapy of Parkinson's disease.* Koller, W.C; Paulson, G; Dekker, M. (eds)N.Y. an Basel.161-167.
- Yahr, M.D; Mendoza, M.R; Moros,D. And Gergmann, J.K. (1983).Treatment of Parkinson's disease in early and late phase. Use of pharmacological agents with special reference to deprennyl (selegiline). *Acta Neurol. Scand. Suppl.* 95: 95-102.
- Yamamoto, M. (1998) Do dopamine agonists provide neuroprotection. *Neurology.* 51 (suppl 2) S10-S12
- Yoshikawa, D.M.; Manamiyama, Y.; Naito, Y. And Kondo, M. (1994) Antioxidant propiedades of Bromocriptine a dopaminergic agonista. *J. Of Neurochemistry.* 62:1034-1038.
- Yurek, D.M. y Sladek, J.R. (1990). Dopamine cell replacement: Parkinson's disease. *Ann Rev. Neurosci.* 13:415-440.

- Yuste, R. y Denk, W. (1995). Dendritic spines as basic functional units of neuronal integration, *Nature* 375: 682-684.

- Yuste, R; Majewska, A; Cash S.S. y Denk, W. (1999). Mechanisms of calcium influx into hippocampal spines: heterogeneity among spines, coincidence detection by NMDA receptors, and optical quantal analysis, *J. Neurosci.* 19(6): 1976-1987.- Yuste, R. and Bonhoeffer, T. (2004). Genesis of dendritic spines: insights from ultrastructural and imaging studies. *January.* 5:24-34.

- Zigmond, M.J; Abercrombie, E.D; Berger, T.W; Grace, A.A. y Stricker, E.M. (1990). Compensation after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications. *TINS* 13, 7: 290-295.

- Zigmond, M.J; Hastings, T.G; Abercrombie, E.D. (1992) Neurochemical response to 6-OHDA therapy. Implications for Parkinson's disease. *Ann. Ny. Acad. Sci.* 648. 71-86. En Ferrario, J.E; Delfina, M. A; Stefano, A V.; Zbarsky, V, Douhou, A; Murer, M.G; Raciman-Vozari, R and Gershanik, O.S. (2003). Effects of orally administered levodopa on mesencephalic neurons undergoing a degenerative process. *Neuroscience Research.* I-6.

MÈTODO DE GOLGI

1.- Las muestras ya fijadas se lavan en buffer fosfatos y se sumergen en una mezcla de osmio-dicromato (OsO_4 1g, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 8g, H_2O 300ml) durante 7 días a temperatura ambiente en la obscuridad (se utilizarán 10ml de mezcla para cada cerebro).

2.- A continuación las muestras se lavan rápidamente con agua destilada, después con nitrato de plata al 0.75%. Los fragmentos se colocan en nitrato de plata durante 24 horas a temperatura ambiente.

3.- Para realizar los cortes, se quita el exceso de nitrato de plata con papel filtro y se encastran en un bloque de parafina. La parte libre de la muestra se baña en alcohol al 95% y se realizan los cortes de $120\mu\text{m}$, lubricando constantemente la cuchilla con alcohol.

4.- Los cortes se deshidratan en 2 baños de alcohol absoluto 10 minutos cada uno, posteriormente en esencia de clavo durante 10 minutos para ser aclarados, y después dos cambios de xilol, finalmente se montan en un portaobjetos con resina sintética.

INMUNOCITOQUIMICA PARA TIROXINA HIDROXILASA PARA MICROSCOPIA DE LUZ.

- 1.- Para el proceso de inmunocitoquímica. Una vez fijado el cerebro se toma el mesencéfalo ventral y se hacen cortes en vibratomo de 50 micras y se ponen en buffer de fosfatos salino (PBS) al 0.1M.
- 2.-Posteriormente se pasan los cortes por tres 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, y se sumergen los cortes durante una hora con agitación.
- 5.- Posteriormente 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 °C (utilizando cámara húmeda).
- 6.- Se lavan los cortes tres veces, en buffer TRIS con 1% de SNC durante 10 minutos con agitación.
- 7.- A continuación se incuba el tejido por dos horas a temperatura ambiente en el anticuerpo secundario ANTI-IGg de conejo, en una alícuota 1:1000 en buffer TRIS con 1% de SUERO NORMAL DE CABRA con agitación.
- 8.- Se lava el tejido tres veces por 10 minutos en buffer TRIS con 1% de SUERO NORMAL DE CABRA, con agitación.

9.- Se incuba nuevamente el tejido en ABIDINA-BIOTINA (1:200) durante 1 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.- E tejido se lava tres veces durante 10 minutos en buffer TRIS con agitación.

11.- Nuevamente se incuba el tejido en 3-3 DIAMINOBENZIDINA (DAB) al 0.05% y 0.003% de peroxido de hidrógeno, dejándolos hasta que se observen poco oscuros, aproximadamente 5 minutos.

12.- El tejido se lava tres veces durante 10 minutos en buffer TRIS.

13.- Una vez procesado el tejido se montan los cortes en porta objetos previamente gelatinizados y se dejan secar durante un día.

14.- Posteriormente se deshidratan en alcoholes en orden creciente (del 60 % al 96%) y Xilol sumergiéndolos 10 minutos en cada uno.

15.- Finalmente se les agrega resina y se colocara el cubreobjetos

ABREVIATURAS

EP	Enfermedad de Parkinson
DA	Dopamina
GB	Ganglios Basales
NE	Núcleo Estriado
SN	Sustancia Nigra
SNc	Sustancia Nigra Compacta
SNr	Sustancia Nigra Reticular
GPI	Globo Pálido Interno
GPe	Globo Pálido Externo
NST	Núcleo Subtalámico
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
SOD	Superóxido Dismutasa
GSH-Px	Glutación Peroxidasa
O ₂ ⁻	Anión Superóxido
H ₂ O ₂	Peroxido de Hidrógeno
OH [•]	Radical Hidroxilo
NO	Oxido Nitrico
ONOO ⁻	Peroxinitrito
MAO	Monoaminoxidasa
6-OHDA	6-Hidroxidopamina (2,4,5 Trihidroxyfeniletilamina)
MPTP	1-Metil-4, Fenil-1,2,3,6- Tetrahidropiridina
TH	Tirosina Hidroxilasa
GABA	Acido-gamma-amino-butírico

APÉNDICE 1

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN

1.- Después de lavar los fragmentos en buffer de fosfatos salino (PBS) al 0.1M se colocan durante una hora en tetraóxido de Osmio al 1% preparado con PBS para la postfijación.

Los fragmentos se lavan con PBS en tres cambios de 10 minutos cada uno.

2.- Se deshidrata el tejido con alcoholes en concentraciones crecientes (del 50% al 90%) durante 10 minutos, y finalmente el tejido se coloca en alcohol al 100% por tres ocasiones de 10 minutos cada una.

3.- El tejido se coloca en tolueno durante dos periodos de 10 minutos cada uno.

4.- Los fragmentos se infiltran en una mezcla de resina 1:1 araldita-tolueno a 60°C.

5.- Los fragmentos se mantienen por 12 horas en una mezcla 3:1 de araldita tolueno a temperatura ambiente.

6.- Los fragmentos ya infiltrados se incluyen en araldita pura y se polimerizan a 60 °C durante 24 horas.

7.- Una vez que se polimerizo la resina, se hacen los cortes finos de 600Å en un ultramicrotomo, utilizando cuchilla de diamante.

8.- Los cortes se montan en rejillas de cobre y se contrastan con acetato de uranilo al 5% durante 25 minutos y con citrato de plomo al 0.4% por 10 minutos.