

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS

BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**DIFERENCIA ENTRE GÉNEROS DE UN MODELO DE
PARKINSON EN RATAS PROVOCADO POR 6-OHDA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

PRESENTA

ERICK ALEJANDRO FLORES MARTÍNEZ

DIRECTORA DE TESIS: DRA. MARIA ROSA DE LOURDES AVILA COSTA

MÉXICO, D.F

JULIO, 2005



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 PRESENTE TRABAJO EXPERIMENTAL SE REALIZÓ EN EL
LABORATORIO DE NEUROMORFOLOGÍA EN LA UNIDAD
INTERDISCIPLINARIA EN CIENCIAS DE LA SALUD Y LA EDUCACIÓN
DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM.**

**ESTE TRABAJO FUE APOYADO POR CONACYT CON NÚMERO DE
REGISTRO 172675.**

COMITÉ TUTORAL:

PRESIDENTE: DRA. TERESA IMELDA FORTOUL van der GOES

VOCAL: DRA. ELIZABETH HERNÁNDEZ ECHEAGARAY

SECRETARIO: DRA. MARIA ROSA AVILA COSTA.

SUPLENTE: M. en C. ALFONSO REYES OLIVERA

SUPLENTE: DRA. LAURA COLÍN BARENQUE.

A TI, POR QUIEN HEMOS DE LUCHAR JUNTOS PARA DARTE UN FUTURO LLENO DE AMOR, VALORES Y ESPERANZA.

A GIS, POR TU APOYO INCONDICIONAL, POR TU AMISTAD Y POR QUIEN HE APRENDIDO LO MAS VALIOSO QUE ES AMAR. Y POR TODO LO QUE NOS ESPERA EN ESTA NUEVA ETAPA DE NUESTRA VIDA, POR TI AMOR.

A MI MAMA Y HERMANA POR SU AMOR Y CARIÑO.

A MARIA ROSA POR TU VALIOSA AMISTAD, POR TODO LO QUE ME HAS ENSEÑADO Y POR PERMITIRME SER PARTE DE ESTE MARAVILLOSO EQUIPO DE TRABAJO.

A LAURA COLIN Y TERE FORTOUL POR SU AMISTAD BRINDADA ASI COMO POR LAS ENSEÑANZAS ADQUIRIDAS.

A JESUS POR SU APOYO INCONDICIONAL EN LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO, SIN EL CUAL NO HUBIERA PODIDO SER.

A ANA Y LUIS POR SU GRAN AYUDA, POR SUS CONSEJOS Y ENSEÑANZAS Y SOBRE TODO POR SU AMISTAD, UN AGRADECIMIENTO SINCERO.

A PATY POR SU AYUDA Y AMISTAD.

A ENRIQUE, PABLO, VERO POR SU AMISTAD Y ENSEÑANZAS

**A MIS GRANDES AMIGOS, POR QUIEN GRACIAS A ELLOS ESTOY
AQUÍ, POR SU APOYO Y GRAN AYUDA GERARDO, IVAN, SALUSTIO.**

**A MI COMPA, AUQUE MUCHAS VECES LA DISTANCIA NOS SEPARE,
POR LOS GRANDES MOMENTOS COMPARTIDOS, POR TU AMISTAD
VERDADERA E INCONDICIONAL.**

**A LA DRA. TERESA IMELDA FORTOUL van der GOES, DRA. ELIZABETH
HERNÁNDEZ ECHEAGARAY, DRA. MARIA ROSA AVILA COSTA, M. en C.
ALFONSO REYES OLIVERA, DRA. LAURA COLÍN BARENQUE, QUIENES
INTEGRARON MI COMITÉ TUTORAL, POR SUS CORRECCIONES Y
SUGERENCIAS QUE HICIERON PARA QUE ESTE TRABAJO FUERA
POSIBLE.**

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
ANTECEDENTES.....	5
ETIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.....	7
GANGLIOS BASALES.....	13
ORGANIZACIÓN FUNCIONAL.....	14
CIRCUITO MOTOR.....	16
ORGANIZACIÓN CELULAR.....	20
GÉNERO Y ENFERMEDAD DE PARKINSON.....	26
MODELOS EXPERIMENTALES DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.....	30
MODELO CON 6-HIDROXIDOPAMINA (6-OHDA).....	31
CONSECUENCIAS DE LA DEPLECIÓN DOPAMINÉRGICA.....	34
JUSTIFICACIÓN.....	36
OBJETIVOS.....	37
METODOLOGÍA.....	38
RESULTADOS.....	41
CITOLOGIA.....	41
NEURONAS INMUNORREACTIVAS A TH ⁺	41
ESPINAS DENDRÍTICAS.....	46
ULTRAESTRUCTURA.....	53
ANÁLISIS DEL DIÁMETRO DE LOS BOTONES SINÁPTICOS....	53
ESTRUCTURA POSTSINÁPTICA.....	60

TIPO DE CONTACTO SINÁPTICO.....	64
DISCUSIÓN.....	68
INMUNOCITOQUÍMICA.....	68
ALTERACIONES EN EL NÚMERO DE ESPINAS DENDRÍTICAS.....	71
EDEMA DE LOS BOTONES SINÁPTICOS.....	75
TIPO DE CONTACTO.....	77
SINÁPSIS PERFORADAS.....	78
ALTERACIONES EN EL ESTRIADO CONTRALATERAL.....	79
CONCLUSIÓN.....	80
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
APÉNDICES.....	99

ABREVIATURAS

SNC – SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

EP– ENFERMEDAD DE PARKINSON

6-OHDA- 6-HIDROXIDOPAMINA

GB – GANGLIOS BASALES

Gpe – GLOBO PÁLIDO EXTERNO

Gpi – GLOBO PÁLIDO INTERNO

SN – SUSTANCIA NIGRA

SNc – SUSTANCIA NIGRA PARS COMPACTA

SNr – SUSTANCIA NIGRA PARS RETICULATA

NST – NÚCLEO SUBTALÁMICO

DA – DOPAMINA

DOPAC – DIHIDROXIFENILACETALDEHIDO

COMT – CATECOL - O – METIL TRASFERASA

MAO – MONOAMINO OXIDASA

L-DOPA - L-DIHIDROXIFENILALANINA

HVA – ÁCIDO HOMOVANÍLIVO

RL – RADICALES LIBRES

ERO – ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

O₂[•] – RADICAL SUPERÓXIDO

H₂O₂ – PERÓXIDO DE HIDRÓGERNO

OH[•] – RADICAL HIDROXILO

MPTP - 1-METIL-4, FENIL-1, 2, 3, 6-TETRAHIDROPIRIDINA

SOD – SUPERÓXIDO DISMUTASA

CAT - CATALASA

GSH-Px – GLUTATIÓN PEROXIDASA

DAT – SISTEMA TRANSPORTADOR DE DOPAMINA

CREB – PROTEÍNA LIGADA A LA RESPUESTA AMPc

BDNF – FACTOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DE CEREBRO

GAD – GLUTAMATO DESCARBOXILASA

PSD – DENSIDAD POSTSINÁPTICA

NMDA – N-METIL-D-ASPARTA

AMPA – ACIDO α -AMINO-3-HIDROXI-5-METIL-4-ISOXAZOLPROPIÓNICO

MET – MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN

RESUMEN

En los últimos años se ha observado que existe una mayor incidencia de la enfermedad de Parkinson en hombres que en mujeres (3:2) proponiéndose que esta diferencia es debida a la acción de las hormonas sexuales, ya que un sitio de acción de los estrógenos dentro del SNC es el sistema nigroestriatal. Sin embargo la mayoría de los estudios referentes a estas diferencias han sido llevados a cabo en ratas ovariectomizadas con la administración exógena de estrógenos, siendo pocos los estudios realizados en ratas intactas.

El objetivo del presente trabajo fue determinar las diferencias genéricas en ratas mediante el análisis citológico y ultraestructural del estriado y sustancia nigra después de la lesión con 6-OHDA.

Se lesionaron unilateralmente 20 ratas Wistar (10 machos y 10 hembras) en el haz medial del cerebro anterior con vehículo (n=5) y con 6-OHDA (n= 5) para cada sexo. El análisis se llevó a cabo mediante inmunocitoquímica para tiroxina hidroxilasa, cuantificando el número de neuronas dopaminérgicas sobrevivientes en la sustancia nigra; el método de Golgi para la cuantificación de las espinas dendríticas, y mediante MET para el análisis ultraestructural del estriado.

De acuerdo con los resultados obtenidos observamos que la lesión con 6-OHDA provocó alteraciones citológicas y ultraestructurales, como edema de los botones presinápticos, pérdida de espinas dendríticas en las neuronas espinosas medianas, disminución de contactos con espinas, aumento en el número de sinapsis perforadas y pérdida de neuronas dopaminérgicas en la SNc, siendo afectado también el lado contralateral aunque en menor grado. Dichas alteraciones fueron sexo-dependientes, es decir, el daño fue menor y estadísticamente diferente en las hembras con respecto a los machos, siendo esta diferencia probable a la presencia de los estrógenos.

ABSTRACT

In the last years, it has been observed a greater incidence of Parkinson's disease in men than in women (3:2) setting out that this difference is due to the action of sexual hormones, since one site of action of estrogens in the SNC is the nigrostriatal system. Nevertheless most of the studies have been carried out in ovariectomized rats with exogenous estrogen administration, being few the studies which include intact rats.

The objective of the present work was to determine the generic differences in rats by means of the cytological and ultrastructural analysis of the striatum and the *substance nigra* after dopamine depletion with 6-OHDA. The experiments were carried out in 10 Wistar rats ($190 \pm$ g) at the beginning of the study. The rats were injected unilaterally in the medial forebrain bundle with vehicle (saline solution) (n=5) and 6-OHDA (n = 5) for each sex. The analysis was carried out by immunocytochemistry for tyrosine hydroxylase, quantifying the number of surviving dopaminergic neurons in the *substance nigra*; the Goligi method for the quantification of the dendritic spines in the striatum, and by electron microscopy for the ultrastructural analysis of the striatum.

Our results demonstrate that the dopamine depletion caused cytological and ultrastructural alterations, like edema of the presynaptic endings, loss of dendritic spines, decrease of axospinous synaptic contacts, increase in the number of perforated synapses and loss of dopaminergic neurons in the SNc, being also affected the contralateral side although in smaller degree. These alterations were sex-dependent since the damage was smaller and statistically different in the females than in males. Our results suggest that female hormones may function as an important modulatory factor capable of attenuating degeneration within the corpus striatum, and in this way serve as a neuroprotectant of the nigrostriatal dopaminergic system.

INTRODUCCIÓN

Las alteraciones de los ganglios basales producen principalmente movimientos involuntarios. Estos son: temblor (con movimientos rítmicos y oscilatorios), atetosis (movimientos lentos de los dedos y manos, y en ocasiones de los pies), corea (movimientos abruptos de los miembros y de los músculos de la cara), balismo (movimientos violentos) y distonia (postura persistente de alguna parte del cuerpo que puede resultar en movimientos grotescos y posturas distorsionadas del cuerpo (Velasco, 1986; Joyce, 1993).

Dentro de estas alteraciones, se encuentra la enfermedad de Parkinson (EP), la cual es uno de los desórdenes neurodegenerativos más comunes que ocurren en la edad adulta. James Parkinson la describió en 1817, basándose en seis casos en su ensayo "An Essay on the Shaking Palsy" (Ensayo sobre la parálisis agitante).

Esta enfermedad se caracteriza por cuatro rasgos clínicos principales: a) temblor en reposo, que se ha descrito como movimiento de rodar pílora entre los dedos pulgar e índice alternadamente, con una frecuencia de 4-7 segundos; b) bradicinesia (menor amplitud y velocidad en el movimiento voluntario); c) rigidez muscular (resistencia al movimiento pasivo) y d) alteración de la postura como inclinación de la cabeza en posición erecta, tronco dirigido hacia adelante, hombros caídos, brazos flexionados, manos delante del cuerpo y rodillas en flexión (Jiménez-Jiménez, 2000; Dauer y Przedborski, 2003).

Además de los síntomas motores, solo en algunas ocasiones se acompaña de (especialmente en la fase tardía de la enfermedad) pérdida de las capacidades mentales, alteraciones conductuales, tornándose dependientes, temerosos, indecisos y pasivos (Rafal, et al. 1884 citado por García-Hernández y Massieu-Trigo, 1993; Sánchez-Rodríguez, 2002).

Este padecimiento es progresivo, la incapacidad total ocurre entre los 10 y 20 años de iniciada la enfermedad si es que no se ha utilizado ningún tratamiento y por lo general la muerte es prematura debido a complicaciones secundarias, generalmente del sistema respiratorio (embolia pulmonar, infecciones respiratorias, neumonía y broncoaspiración) (Otero-Siliceo, et al. 1996).

La enfermedad se ha clasificado en dos grandes grupos: el Parkinson Idiopático, cuya causa es desconocida y a la que se le conoce propiamente como enfermedad de Parkinson; y el síndrome parkinsoniano cuya etiología es conocida, refiriéndose a cualquier desorden que involucre múltiples sistemas o que muestre lesiones en el estriado, tales como: la parálisis supranuclear progresiva, la atrofia olivopontocerebelosa, el síndrome de Shy-Drager, la atrofia multisistémica y la degeneración estrionigral (Otero-Siliceo, et al. 1996; Jiménez-Jiménez, et al. 2000).

ANTECEDENTES

A principios del siglo pasado se demostró que en los pacientes con EP existía una pérdida neuronal y despigmentación en la *sustancia nigra pars compacta* (SNc) (Tretiakoff, 1919).

En 1966 Hornykiewicz analizó cerebros de pacientes parkinsónicos y encontró una disminución considerable (>50%) de dopamina (DA) y su metabolito el ácido homovanílico (HVA), así como de serotonina y noradrenalina en el núcleo caudado, en el putamen, en la SNc y en un área menos extensa del globo pálido (GP); y de las tres aminas biogénicas, la dopamina fue la que más drásticamente estaba reducida. Además de la reducción de dopamina, el cerebro de los pacientes parkinsónicos mostraba pérdida de las células nerviosas y despigmentación en el *locus coeruleus*, observándose también que las neuronas del cuerpo estriado, las cuales reciben las aferencias de las neuronas dopaminérgicas localizadas en la SNc se encontraban atrofiadas, es decir, las dendritas de las neuronas del cuerpo estriado estaban edematosas y con una notable pérdida de espinas dendríticas (McNeill, et al. 1988).

Otra característica de dicha enfermedad, es que el citoplasma y algunos procesos celulares de las neuronas sobrevivientes de la *sustancia nigra* (SN), del *rafé dorsal* y del *locus coeruleus* presentaban agregados celulares hoy llamados cuerpos de Lewy (CL) (Lewy, 1912; Forno, 1982; Price, et al 1986). Se han clasificado en dos tipos en base a su morfología: Los clásicos que son

intraneuronales, redondeados, siendo inclusiones eosinófilas con núcleo hialino y un halo periférico pálido y los de tipo cortical los cuales son estructuras pobremente definidas en su forma y casi siempre aparecen con un halo o núcleo prominente (Takahashi y Wakabayashi, 2001).

Con base en estudios postmortem, se ha asumido que al menos 60-70% de las neuronas dopaminérgicas de la SNc debe perderse antes de la aparición clínica de los primeros síntomas clínicos de la enfermedad (Gerlach y Reiderer, 1999a), ya que al inicio de la enfermedad las neuronas dopaminérgicas sobrevivientes incrementan su actividad ocasionando una mayor liberación y recambio de dopamina, observándose un incremento en la actividad de la tiroxina hidroxilasa; mientras que las neuronas postsinápticas en el estriado incrementan sus receptores postsinápticos, siendo esto probablemente un mecanismo compensatorio a la pérdida progresiva de la inervación dopaminérgica (Seeman y Niznik, 1990; Zigmond, et al. 1990; Anglade, et al. 1995; Araki et al. 1998; Zhang, et al. 2001).

La pérdida neuronal asociada a la EP es distinta a la pérdida neuronal vista en el envejecimiento y ha sido caracterizada topológicamente, observando que en la EP la pérdida neuronal se concentra en la porción ventrolateral y caudal del la SNc, mientras que en el proceso de envejecimiento la porción dorsomedial es la que se encuentra afectada (Fearnley y Lees, 1991).

ETIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON.

Aunque aún no se conocen las causas de la destrucción de las neuronas en la EP, ni se tiene una explicación satisfactoria de la relativa selectividad por las neuronas dopaminérgicas de la SNc se han postulado varias hipótesis tanto de la muerte celular como de la selectividad (Schapira, 1999; 2001; Shastri, B. 2001; Reiderer, et al. 2001; Dauer y Przedborski, 2003; Kolesnikova y Serebrovskaya, 2003).

1. Factores Genéticos: Se ha estimado que el 90% de los casos de la EP es esporádico y cerca del 10% es familiar (Goldman y Tanner, 1998). A la fecha se han identificado 10 loci que se han relacionado con la EP hereditario (Le y Appel, 2004); de los cuales, solo cinco mutaciones en 5 genes han sido identificados (Paisán-Ruiz, et al. 2005). Entre los que se encuentran: a) La α -sinucleína (comprende el mayor componente fibrilar de los CL). Se han identificando dos mutaciones, la primera es una sustitución de una alanina por una treonina en la posición 53 y la segunda es el resultado de una sustitución de una alanina por una prolina en la posición 30. Estos pacientes se caracterizan por tener un inicio temprano (46 años) de la enfermedad, así como la presencia de CL (Mouradian, 2001). b) El UCHL1 es una enzima que pertenece a la familia de las ubiquitinas hidrolasas-carboxi terminal; presenta una mutación en la posición 93 (cambio de una isoleucina por una metionina) lo cual disminuye su actividad, resultando en una deficiencia del sistema de ubiquitinas, por lo que las proteínas no funcionales no pueden ser eliminadas y

de alguna forma agregados que llevarían a la degeneración celular por un mecanismo desconocido (Mouradian, 2001). c) El Parkin que codifica una proteína formada por 465 aminoácidos que en los casos observados incluye deleciones o mutaciones puntuales, clínicamente los pacientes presentan una edad de inicio de la enfermedad cercana a los 20 años, y hay una severa pérdida de neuronas de la SNc y el *locus coeruleus*, pero no hay presencia de CL (Mouradian, 2001; Shastri, 2001; Le y Appel, 2004). d) DJ-1 que se ha involucrado como un monitor celular del stress oxidativo (Mitsumoto y Nagagawa, 2001) presentó mutaciones (deleciones o inserciones) con EP hereditario autonómico recesivo (Bonofati, et al. 2002) y e) PINK1 (PTEN protein-cinasa), el cual se observó en pacientes que presentaron EP hereditario (autonómico recesivo) (Valente, et al. 2004).

2. Factores ambientales:

Diversos estudios epidemiológicos han sugerido una relación entre la industrialización y el uso de agroquímicos como factores en la incidencia de la EP (Tanner, 1989; Shastri, 2001), entre los que tenemos al paracuat (herbicida), la rotenona (plaguicida), entre otros (Collins y Neafsey, 2002).

3. Disfunción Mitocondrial:

Se ha observado principalmente que los niveles de NADH citocromo c reductasa que es un marcador del complejo I de la cadena mitocondrial, se encuentra reducido en la sustancia nigra de pacientes con la enfermedad de Parkinson

(Schapira, et al. 1989; Schapira, 1999). Se ha atribuido que las fallas en los diversos complejos de la cadena respiratoria pueden ser resultado de defectos genéticos, ya que 17 subunidades de los complejos de la cadena respiratoria son codificados por el DNA mitocondrial, siendo relativamente mas "vulnerables" que el genoma nuclear ya que el mtDNA está sujeto a procesos oxidativos por encontrarse localizado en la vecindad de los sitios donde se forman especies reactivas de oxígeno (ERO). Por lo que el nivel de mutación en el mtDNA muestra un orden de magnitud mas alto que el DNA cromosomal (16 veces mas alto) (Kolesnikova y Serebrovskaya, 2003).

4. Estrés oxidativo:

Las reacciones de oxido-reducción son procesos biológicos esenciales que conducen a la formación de diferentes compuestos en los procesos metabólicos celulares. Estas reacciones conllevan la transferencia de electrones generando productos conocidos como radicales libres (RL) o especies reactivas de oxígeno (ERO) (Facchinetti, et al. 1998).

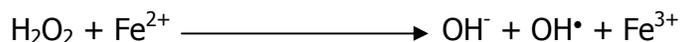
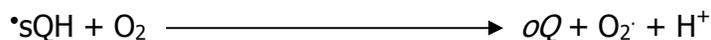
La hipótesis del estrés oxidativo se refiere a un desbalance entre la formación de ROS, como el radical superóxido (O_2^*), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^*), con los procesos de defensa antioxidante, contribuyendo de manera directa o sinérgica a la patogenia de algunas enfermedades neurodegenerativas entre ellas la EP (Fahn y Cohen, 1992; Olanow, 1993; Coyle y Puttfarcken, 1993; Rose, et al. 1999; Gerlach, et al. 1999b; Reiderer, et al. 2001).

Existen diversas razones por las cuales el estrés oxidativo ha sido una de las bases del mecanismo propuesto para explicar la muerte progresiva y selectiva de las neuronas dopaminérgicas en pacientes que presentan EP.

Entre ellas tenemos que el cerebro es extremadamente vulnerable al daño por ERO, ya que consume aproximadamente 20% del requerimiento total de O_2 ; a la alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados, y a que hay gran cantidad de hierro particularmente en la SN (Finotti, et al. 2000; Friedman y Galazka-Fiedman, 2001), por lo que un desbalance entre la producción de ERO con los sistemas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GSH-Px) ocasionaría la oxidación de proteínas, con la consiguiente desconfiguración estructural de las mismas; a nivel de los lípidos, provocaría peroxidación lipídica modificando la permeabilidad de la membrana celular, con la consecuente pérdida de la integridad de la membrana plasmática y de los organelos celulares con el correspondiente daño y muerte celular (Götz, et al. 1994; González-Torres, et al. 2000; Segura, et al. 2003).

Asimismo, la dopamina que se encuentra ampliamente distribuida en el cerebro, particularmente en el estriado, en condiciones fisiológicas es oxidada en una reacción no enzimática para formar H_2O_2 y *o*-quinona (*oQ*) (Fahn y Cohen, 1992), a su vez *oQ* sufre una ciclación intramolecular que es seguida de una serie de reacciones de oxidación que resulta en la formación de la neuromelanina (Zecca, et al. 2003). El mecanismo molecular generalmente

aceptado para la producción de OH• por la autooxidación de la dopamina se describe a continuación (Hermida-Ameijeiras, et al. 2004):



Donde: QH₂: Forma reducida de la dopamina
 oQ: o-Quinona
 *sQH: Radical semiquinona de la dopamina
 O₂⁻: Anión superóxido

La dopamina también puede ser desaminada por la monoamino oxidasa (77% por MAO-B y 23% por MAO-A), formando en este proceso H₂O₂ y 3,4-Dihidroxifenilacetaldehído (DOPAC), el cual es subsecuentemente metilado por la catecol-O-metil transferasa (COMT) para formar ácido homovanílico (HVA). Por lo tanto, ya sea por la autooxidación o por la acción de la MAO el metabolismo de la dopamina está involucrado en la formación de H₂O₂, el cual es un compuesto que puede ser fácilmente reducido en presencia del ión hierro (Fe²⁺), para formar a través de la reacción de Fenton, el radical OH•, el cual es considerado como el más dañino dentro de los seres vivos



Como ya se mencionó anteriormente, la EP es reflejo de alteraciones de los ganglios basales. Los cuales son considerados el mayor eslabón subcortical entre las áreas sensoriales y motoras de la corteza cerebral y, al igual que el cerebelo son un sitio de convergencia e integración de diversas aferencias. La importancia de los ganglios basales es la integración sensoriomotora, que se hace evidente al observar el déficit de movimiento, postura y tono muscular que presentan los pacientes con desórdenes de estos núcleos (DeLong, 1974).

GANGLIOS BASALES.

Los Ganglios Basales hacen referencia a un conjunto de núcleos subcorticales localizados en el telencéfalo, diencefalo y el mesencéfalo. Este grupo de núcleos incluye: Núcleo estriado (el cual en primates esta dividido por la cápsula interna en el núcleo caudado y el putamen); el globo pálido (GP) que a su vez está subdividido en un segmento externo (GPe) y uno interno (GPi); el núcleo subtalámico (NST) que surge de la región lateral hipotalámica del diencefalo; La sustancia nigra que es una estructura mesencefálica que se extiende de entre la región subtalámica, localizada justamente por debajo del NST, comprende 2 partes: una región ventral denominada pars reticulata (SNr) y una dorsal denominada pars compacta (SNc) la cual esta formada por células dopaminérgicas (Blandini, et al. 2000; Yelnik, 2002) (Fig. 1).

Estudios anatómo-funcionales reportan que los ganglios basales son un sitio de convergencia e integración de múltiples áreas sensoriales, motoras y de asociación; de manera que su modulación junto con la del cerebelo sirve para lograr la planificación, iniciación, coordinación, guía y terminación apropiada de los movimientos voluntarios (Albin, et al. 1989; Joel y Weiner, 1994; Jueptner y Weiller, 1998; Álvarez, et al. 2001; Purves, et al. 2001).

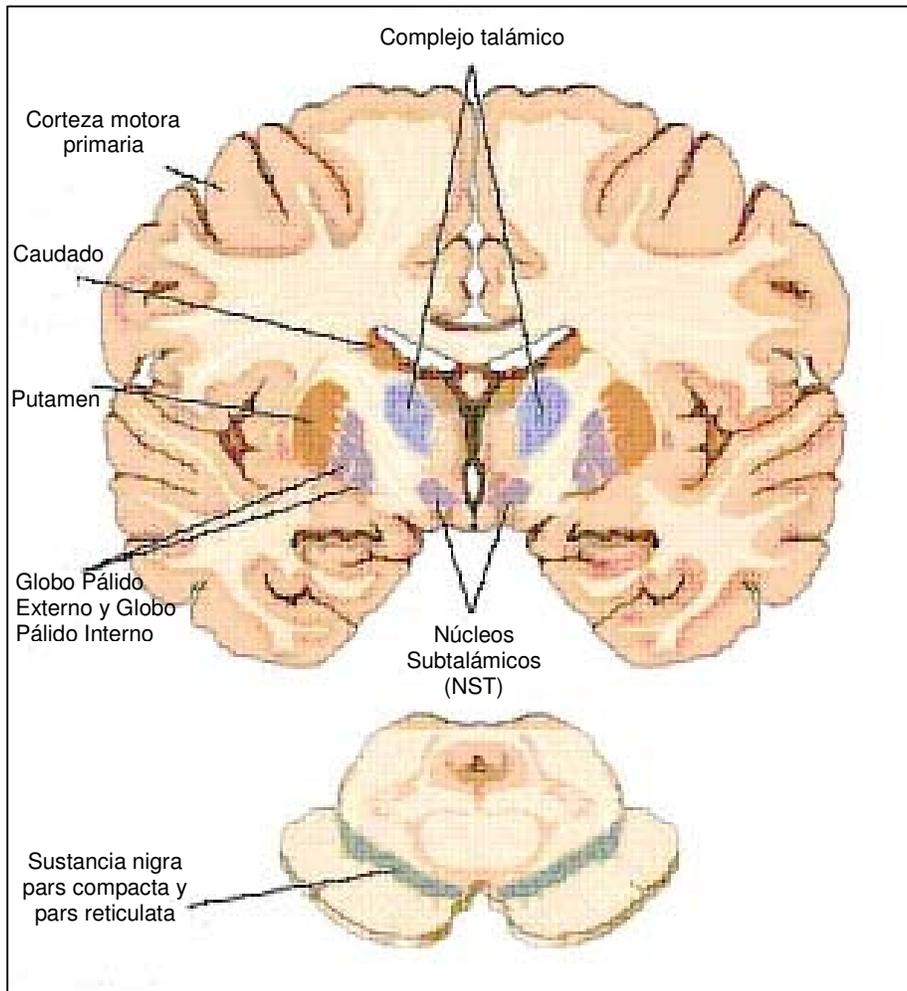


Fig. 1. Anatomía de los Ganglios Basales. Tomado de Purves, et al. 2001

ORGANIZACIÓN FUNCIONAL.

Las complejas conexiones de los ganglios basales se pueden simplificar con base en sus circuitos intrínsecos, los cuales están organizados funcional y estructuralmente. En la actualidad se conocen cinco circuitos principales

(Alexander y Crutcher, 1990; Hoover y Strick 1993; Parent y Hazrati, 1995; Smith, et al. 1998; Alvarez, et al. 2001; DeLong, 2001):

1. Circuito motor (es esencial en la programación, iniciación y ejecución del movimiento), se origina en las áreas motoras precentrales e incluye además: el putamen, las porciones posterolateral y ventral de los segmentos palidales lateral y medial, el núcleo subtalámico y los núcleos talámicos ventral anterior y ventral lateral. Algunos estudios han demostrado que al menos cinco áreas corticales precentrales proyectan sobre el estriado.

2. Circuito oculomotor: Esta implicado en el control de los movimientos intermitentes del ojo. Se origina en los campos oculares motores frontal y suplementario, y se proyecta al estriado. Éste a su vez envía prolongaciones por las vías directa e indirecta a las zonas laterales de la SNr, que se proyecta de nuevo a los campos oculares frontales, así como al tubérculo cuadrigémino superior.

3. Circuito prefrontal dorsolateral: (Es un circuito vinculado al procesamiento de la memoria espacial). Se origina de las áreas de Brodmann 9 y 10, y se proyecta a la cabeza del estriado, que a su vez lo hace por las vías directa e indirecta a la parte dorsomedial del GPi y a la SNr.

4. Circuito orbitofrontal lateral (es un sistema cognitivo implicado en los procesos de la adaptación conductual). Se origina en la corteza prefrontal lateral y se proyecta hacia la parte ventromedial del estriado. La vía procedente del estriado sigue la del circuito dorsolateral (a través del GPi y SNr, y desde allí al tálamo) y vuelve a la corteza orbitofrontal.

5. Circuito límbico (une el comportamiento motor a las influencias motivacionales, emocionales y afectivas). Se origina en la circunvolución ventral del estriado. Ésta también recibe aferencias del hipocampo, el núcleo amigdalino y la corteza entorrinal. Las proyecciones de la parte ventral del cuerpo estriado van dirigidas a la parte ventral y rostromedial del GPi y la SNr.

CIRCUITO MOTOR

El estriado constituye la entrada al circuito de los ganglios basales y recibe muchas aferencias, la mayoría de ellas glutamatérgicas (y posiblemente aspartérgicas) excitatorias de las áreas sensoriomotoras de la corteza precentral y postcentral (área motora suplementaria, corteza promotora, corteza motora y corteza somatosensorial). Por otra parte, el GPi y la SNr representan los principales núcleos de salida del circuito. Estas dos últimas estructuras ejercen influencia inhibitoria mediada por GABA sobre las neuronas localizadas en el tálamo (Albin, et al. 1989; Alexander y Crutcher 1990; Graybiel 1990; McGeer y McGeer, 1993; White, et al. 1994). Entre el núcleo de entrada y las estructuras

por (+) y las inhibitorias por (-) (Modificado de Bjarkam, et al. 2001).

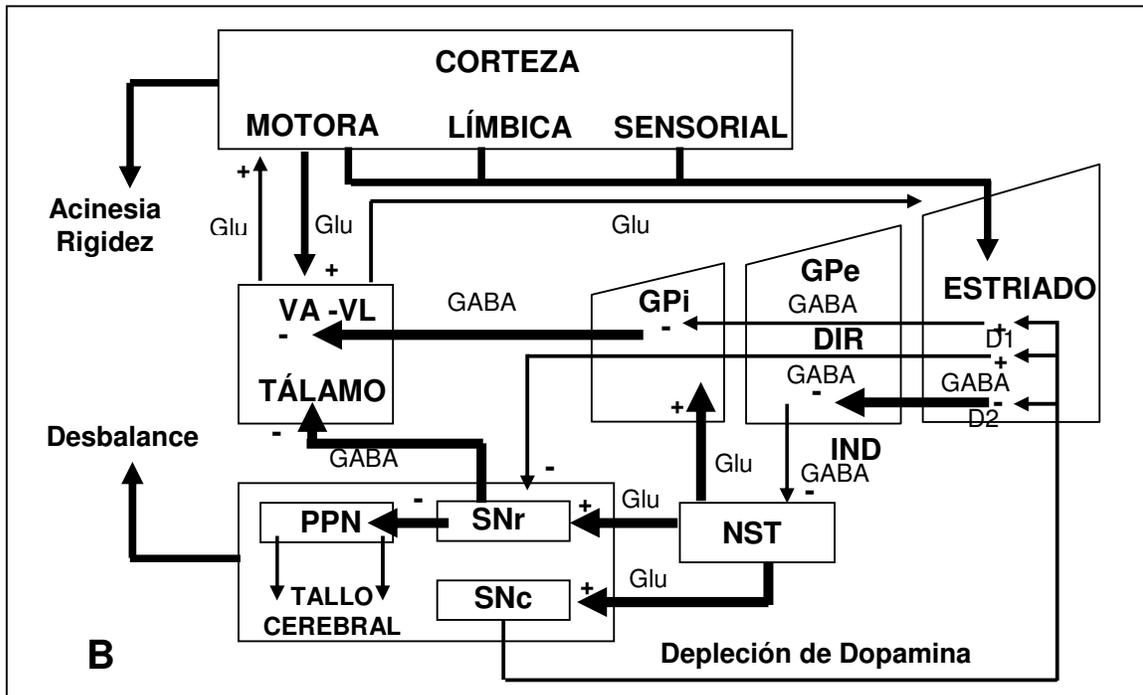


Figura 2B.- Modelo esquemático que ilustra el circuito motor en la Enfermedad de Parkinson, así como la lesión de la vía nigroestriatal. La depleción de Dopamina a el estriado, provoca la reducción de la actividad de la vía directa, y la hiperactividad glutamatérgica del NST, que se traduce en un aumento de la acción inhibitoria de los núcleos de salida GPI/SNr causando la depresión del sistema tálamo-cortical; lo cual es la posible causa de los síntomas parkinsonícos. El resultado de las alteraciones que se presentan después de la pérdida dopaminérgica en todo el circuito, está indicado por el grosor de las flechas (Modificado de Bjarkam, et al. 2001).

La vía directa se origina de neuronas gabaérgicas y peptidérgicas (sustancia P) estriatales que proyectan monosinápticamente sobre el complejo GPI/SNr (Hong, et al. 1977; Brauth, et al. 1983; Christensson-Nylander, et al. 1986; Reiner y Anderson, 1990; Alexander y Crutcher, 1990). La vía indirecta se forma de poblaciones gabaérgicas y encefalinérgicas estriatales que proyectan polisinápticamente sobre el complejo GPe/NST. Esta secuencia indirecta se da

inicialmente por eferencias inhibitorias gabaérgicas del estriado sobre el GPe, de este último sobre el NST cuyas conexiones glutamatérgicas excitatorias conectan con los núcleos de salida (Nakanishi y Kita, 1987).

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 de 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 (Germen y Young, 1988; Albin, et al. 1989; Germen, et al. 1990; LeMoine, et al. 1990; LeMoine, et al. 1991; Gerfen, 1992; Missale, et al. 1988; 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 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 NST y éstas a su vez incrementan la actividad de las neuronas de los núcleos de salida, inhibiéndose las neuronas del tálamo (Alexander y Crutcher, 1990; DeLong, 1990; Smith, et al. 1998).

En el núcleo estriado, la DA aparecería como una sustancia facilitadora de la transmisión de la vía directa e inhibitoria en la vía indirecta. Esta actividad diferencial de la DA esta posiblemente regulada por los diferentes tipos de receptores que hay, los cuales se han dividido en dos familias: D₁ (D₁, D₅) y D₂ (D₃, D₄, D_{1C} y D_{1D}) (Schwartz, et al. 1992; Sidhu, 1998; Missale, et al. 1998), en donde los receptores D₂ se han encontrado en las neuronas que proyectan al GPe y los receptores D₁ en las neuronas que proyectan al GPi (Gerfen, 1992) bajo condiciones normales, la actividad de la vía directa incrementa las eferencias a los GB hacia las neuronas tálamo-corticales, las cuales, a su vez, modulan la actividad de las áreas motoras precentrales (Wichmann y DeLong, 1993). La influencia de la inhibición tónica de las eferencias de los GB sobre la actividad de las neuronas tálamo-corticales, podrían ayudar a suprimir el movimiento, mientras que la reducción fásica de las eferencias de los GB, permitiría la actividad motora voluntaria.

ORGANIZACIÓN CELULAR.

Utilizando la técnica de Nissl se ha reportado que el estriado de los humanos está integrado por 111 millones de neuronas (Fox, et al. 1975) de diversos tipos (DiFiglia, et al. 1976; DiMova, et al. 1980; Chang y Katai, 1982; Graveland, et al. 1985) (Fig. 3). La mayor población neuronal (95%) en el estriado esta representado por las llamadas "neuronas espinosas medianas de proyección" (Kemp y Powell, 1971) y utilizan el ácido γ -amino-butírico (GABA) como neurotransmisor (Kita y Kitai, 1988), las cuales tienen como característica

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

1. Interneuronas gigantes colinérgicas: que representan el 2% de la población total en el estriado (Fox, et al. 1971; Braak y Braak, 1982; Chang y Kitai, 1982; DiFiglia, et al. 1982; Bolam, et al. 1984; Wilson, 1998).

2. Interneuronas en forma de canasta: contienen GABA/ parvoalbúmina que son entre el 3-5% del número total de células, además se incluyen también, otro grupo de interneuronas que contienen GABA/calretinina, sin embargo este tipo de neurona no está caracterizada en detalle.

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

En especies como la rata, el ratón y los gatos las neuronas espinosas medianas de proyección representan el 95% de toda la población neuronal del

estriado, aunque en otras especies este porcentaje varía, como en el mono, en donde estas neuronas representan el 77% de la población y el resto se considera que está constituido por interneuronas (Wilson, 1998).

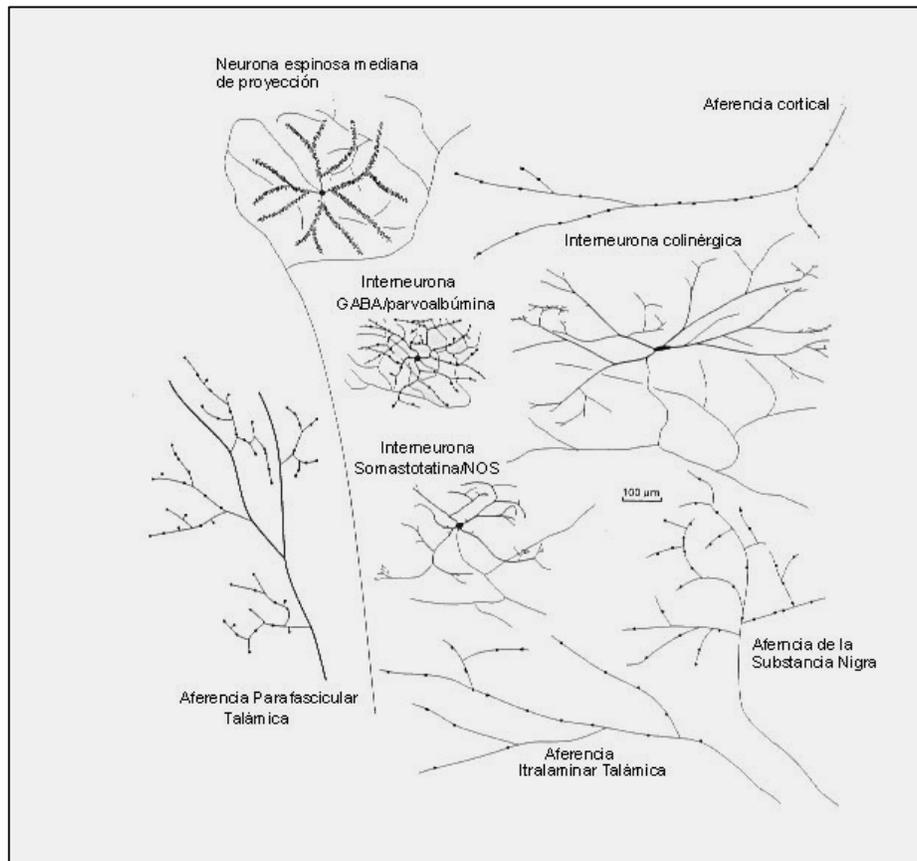


Fig. 3. Fibras aferentes y neuronas de proyección del estriado. Tomado de Wilson (1998).

Ahora bien, como se mencionó anteriormente el estriado recibe aferencias excitatorias de la corteza cerebral con la excepción de la corteza visual y auditiva primaria. Las aferencias corticales utilizan glutamato como neurotransmisor haciendo sinapsis en la cabeza de las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas.

Las espinas dendríticas son blancos postsinápticos primarios de las sinapsis glutamatérgicas excitatorias en el cerebro maduro. Las espinas presentan

diversas formas y tamaños. Hay espinas desde menos de 0.01 mm^3 hasta 0.8 mm^3 . Las espinas y las sinapsis de diferentes tamaños ocurren en una misma dendrita (Spacek y Harris, 1997; Harris, 1999; Segal, et al. 2000; Hering 2001; Hering y Sheng, 2001; Fiala, et al. 2002; Kasai, et al. 2003; Yuste y Bonhoeffer, 2004).

Existen diversas teorías acerca de la función de las espinas:

1. Las espinas dendríticas son sitios de conexión sináptica. Esta inferencia original surgió de las observaciones de Cajal en 1890, las cuales fueron confirmadas por Gray en 1959, en donde muestra que las espinas son el sitio en donde se llevan a cabo las sinapsis tipo I (Gray tipo I), es decir, sinapsis asimétricas asociadas con vesículas sinápticas esféricas. Posteriormente se realizó la correlación entre la morfología de las sinapsis tipo I con la acción excitatoria de las sinapsis glutamatérgicas. Además se demostró otro tipo de sinapsis, las tipos II, las cuales son inhibitorias y se establecen en el cuello de la espina o dendrita (Sheperd, 1990 y 1998). La simple demostración de que las sinapsis tipo I se establecen con la cabeza de las espina y de que las sinapsis tipo II se establecen con el cuello y con las dendritas se ha sugerido que las espinas podrían funcionar como compuertas de entrada hacia las dendritas (Sheperd, 1996).

2. La espina como sitio de daño cerebral: Se ha demostrado que las espinas son sensibles a una gran variedad de condiciones patológicas. Esto es, la

deafferentación produce degeneración de las espinas. La naturaleza de los cambios de las espinas en diversos desórdenes aun no es entendida, pero podría ser el resultado de los desórdenes primarios de estas neuronas, no-utilización o sobreutilización de esas espinas con sinapsis, o efectos tóxicos del influjo del Ca^{2+} , o de otros factores bioquímicos (Sheperd, 1996).

3. Las espinas promueven la sumación de los potenciales postsinápticos excitatorios (Horwitz, 1981). Se ha pensado que la linearización promueve la asociación de las sinapsis coactivadas que subyacen a la potenciación a largo plazo (LTP) (Harris y Kater, 1994).

4. Las espinas son compartimentos que controlan las concentraciones de Ca^{2+} . Los experimentos de Muller y Connor (1991) acerca de lo anterior fueron con base a técnicas de microfluorometría en neuronas de CA3; estos autores 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. Un antagonista del receptor NMDA bloquea dichos cambios en las espinas. La compartimentalización observada permite la especificidad, cooperación y asociación que se observa en los modelos de memoria tales como la LTP (Muller y Connor, 1991; Segal, 1995 b; Sheperd, 1996; Harris, 1999; van Rossum y Hanish; Yuste, et al. 1999).

5. Las espinas constituyen el sustrato morfológico de la memoria (Segal y Murphy, 2001). Existen varios estudios que indican que los cambios en la

morfología de las espinas producen variaciones en la potencia sináptica, por ejemplo en la LTP, dichos cambios en la forma y número de espinas han sido también observados en presencia de procesos de aprendizaje y memoria (Burgess y Coss, 1983; Moser, et al. 1994; Hosokawa, et al. 1995; Segev y Rall, 1998; Engert y Bonhoeffer, 1999; Goldin, et al. 2001).

6. Las espinas 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, 1995b). El principal mecanismo de la espinas al parecer, es atrapar Ca^{2+} en el retículo endoplásmico liso, particularmente en el aparato espinoso (Segal, 1995a; Yuste y Denk, 1995; Sheperd, 1996).

GÉNERO Y ENFERMEDAD DE PARKINSON

Como se mencionó anteriormente la EP está asociada con la edad avanzada (aunque el inicio puede ocurrir también en etapas tempranas). En la gran mayoría de los pacientes ésta inicia entre los 50 y los 79 años, y la frecuencia del padecimiento muestra un pico muy pronunciado entre los 65 y los 75 años, con una incidencia de 2 a 3 casos por cada 1000 habitantes (Jenner, 1992; Tolosa, et al. 1998), observándose una mayor incidencia de la enfermedad en hombres que en mujeres (3:2) (Kurtzke, et al. 1988; Diamond, et al. 1990; Maher, et al. 2002).

Por otra parte, en estudios clínicos se ha observado una mayor incidencia de ciertas enfermedades que están directamente relacionadas con el género, proponiéndose que esta diferencia es debida a la acción de las hormonas sexuales, principalmente los estrógenos (García-Segura, et al. 2001; Azcoitia, et al. 2002).

Por muchos años se consideró que el papel de las hormonas esteroides estaba solo relacionado con la reproducción, sin embargo, a finales de la década de los '70 y principios de los '80 el papel de las hormonas esteroideas dejó de ser restringido a estas funciones, haciéndose más evidente que las hormonas ejercen un amplio espectro de acciones en diversas áreas del organismo en procesos que no están involucradas en la regulación neuroendócrina y/o en el control del comportamiento sexual, como se ha observado en el sistema óseo (Mano, et al. 2001; Hewitt y Korach, 2002), el páncreas (Andrén-Sanberg, et al.

1999), el sistema cardiovascular (Griffin, et al. 2000; Hewitt y Korach, 2002), y el sistema nervioso (García-Segura, et al. 2001; Azcoitia, et al. 2002).

En las últimas décadas, el conocimiento que se ha obtenido acerca de cómo los estrógenos afectan diversas funciones dentro del SNC, así como en el desarrollo del mismo se ha incrementado sustancialmente.

En diversas regiones del cerebro, la exposición a los estrógenos durante el desarrollo del SNC causa diferencias en la organización neuronal entre machos y hembras (Kawata, 1995). Durante el desarrollo, los estrógenos intervienen en diferentes etapas de la neurogénesis (Dodson, et al. 1988; Beyer, 1999); es decir, promueven el crecimiento de diversas regiones como el hipotálamo (Torand-Allerand, 1976), el hipocampo (Gould, et al. 1990), cerebro medio (Reisert, et al. 1987; Beyer y Karolczak, 2000), y la corteza (García-Segura, et al. 1989), modulan la apoptosis (Arai, et al. 1996), afectan la migración de neuroblastos y por consecuencia su agregación en la formación de los núcleos (Gorski, 1988).

Asimismo interactúan con células de la glía (Ivanova, et al. 2001; Dhandapani y Brann, 2002); participan en el crecimiento y proliferación de espinas dendríticas, crecimiento de neuritas resultando en una organización sexo-especifico de los circuitos neuronales (Matsumoto y Arai, 1976; Arnold y Gorski, 1984; Lustig, 1994; Pilgrim y Hutchison, 1994; McEwen y Alves, 1999; Toran-Allerand, et al. 1999).

Un sitio de acción de los estrógenos dentro del sistema nervioso es el sistema nigroestriatal tanto durante el desarrollo del cerebro, como en el estado adulto. Más específicamente, los estrógenos están involucrados con el desarrollo de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales, ya sea en la neurogénesis, plasticidad, así como en la síntesis, liberación y metabolismo de la dopamina. Observándose que la expresión de la tiroxina hidroxilasa es regulada por los estrógenos, lo que soporta la observación de que la función de las neuronas dopaminérgicas durante el desarrollo es dependiente del género y específica con respecto a la síntesis de dopamina y su recaptura (Beyer, et al. 1991; Sibug, et al. 1996). En el estado adulto los estrógenos aparecen principalmente afectando la actividad dopaminérgica en varios pasos de la transmisión en el complejo estriatal, así como la relación en la actividad motora en el estriado (Küppers, et al. 2000), este hecho tiene consecuencias significativas, una de estas es la existencia de las diferencias entre géneros en la actividad del sistema nigroestriatal (McDermott, et al. 1994a; McDermott, et al. 1994b).

En estudios mas recientes, se refiere que además de las acciones anteriormente mencionadas, los estrógenos pueden otorgar cierta neuroprotección en modelos experimentales de neurodegeneración causados por neurotoxinas. Behl y col (1995) reportaron que células HT22 fueron protegidas por el 17 β -estradiol en un modelo de estrés oxidativo inducido por la proteína β -amiloide, H_2O_2 , y glutamato, proponiendo que el estradiol posee capacidad antioxidante. Shy y col (2000) observan en un modelo experimental citotóxico provocado por glutamato en células C6 del glioma, clonas 2B (mezcla de astrocitos y

oligodendrocitos) un efecto neuroprotector del 17 β -estradiol. Sawada y col (1998) mencionan un efecto antineurodegenerativo por parte del 17 α -estradiol (esteroisómero biológicamente inactivo) y el 17 β -estradiol en un modelo experimental con glutamato, $O_2\cdot$ y H_2O_2 , proponiendo un efecto neuroprotector de ambas moléculas. Callier y col (2002) de igual forma encontraron un efecto neuroprotector del 17 β -estradiol y su isómero el 17 α -estradiol contra la toxicidad inducida por el MPTP y la 6-OHDA en cultivos de células mesencefálicas. Granbois y col. (2000) en un modelo de toxicidad inducido por MPTP en ratones C57BL/6 reportan que el 17 β -estradiol previno la depleción de las concentraciones de dopamina, ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) y ácido homovanílico (HVA) estriatal. Sin embargo, ni los tratamientos con testosterona y dihidrotestosterona mostraron reducción en la toxicidad inducida por el MPTP en el sistema nigroestriatal en ratones machos (Dluzen, 1996; Granbois, et al. 1999). Dluzen (1997) observó que ratas hembras ovariectomizadas lesionadas con 6-OHDA con un tratamiento de estrógenos disminuían el grado de depleción de dopamina en comparación con el grupo control.

Estos hallazgos probablemente están relacionados de alguna manera con la diferencia en la incidencia de la enfermedad de Parkinson, donde, como ya se mencionó, parece ser mayor en hombres que en mujeres (Diamond, et al. 1990; Kurtzke y Goldberg, 1998; Maher, et al. 2002).

MODELOS EXPERIMENTALES DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

Diversos químicos neurotóxicos han sido utilizados como herramienta para estudiar los mecanismos básicos que regulan la función neural tanto a nivel celular, molecular y conductual de diferentes organismos (ratas, ratones, monos entre otros). La finalidad de generar estos modelos, es recrear algunos de los eventos que suceden en las enfermedades neurodegenerativas que se presentan y afectan a los humanos (Anaya, 1997). Entre las neurotoxinas que habitualmente se utilizan en animales y que afectan a las neuronas productoras de dopamina se encuentran la 6-hidroxidopamina (6-OHDA) y el 1-metil-4, fenil-1, 2, 3, 6-tetrahidropiridina (MPTP). Con el descubrimiento de estos agentes químicos se logró contar con un modelo experimental de la EP, siendo el estudio en animales el que tiene un papel importante en proveer las bases patofisiológicas de esta enfermedad (Kaakkola y Teräväinen, 1990). Por ejemplo, la observación clínica del decremento de la dopamina estriatal en los pacientes con EP fue sustentada en animales de laboratorio, a los cuales se les aplicó reserpina lo que provocó acinesia por efecto de la depleción de las aminas biogénicas (Morrison y Webster, 1973; Colpaert, 1987), la administración de L-DOPA (fármaco que es utilizado para mejorar los síntomas parkinsónicos) revertió el déficit conductual provocado por la reserpina (Duvoisin, 1976).

MODELO CON 6-HIDROXIDOPAMINA (6- OHDA).

La 6-OHDA es una de las neurotoxinas más utilizadas en el desarrollo de modelos experimentales de la EP en roedores (Ungerstedt, 1968). Bajo condiciones fisiológicas normales la 6-OHDA es oxidada por el oxígeno molecular formando peróxido de hidrógeno y *p*-quinona, esta última experimenta un proceso de ciclación seguida de una serie de reacciones oxidativas resultando en la formación de un pigmento insoluble relacionado a la neuromelanina (Graham, et al. 1978; Gee y Davison, 1989). Cuando es administrada por vía sistémica destruye las neuronas adrenérgicas de los ganglios simpáticos, pero carece de acción tóxica a nivel del sistema nervioso central (Luquín, 2000). Sin embargo, la inyección intracerebral de la neurotoxina 6-OHDA en el haz medial del cerebro anterior o bien sobre la parte compacta de la sustancia nigra provoca la muerte de las neuronas dopaminérgicas y noradrenérgicas (Ungerstedt, 1968; Przedborski, et al. 1995).

La especificidad neurotóxica de la 6-OHDA se ha asociado con su recaptura y acumulación en las neuronas catecolaminérgicas mediante el sistema de alta afinidad de las catecolaminas (Jonsson y Sachs, 1970; Ljungdahl, et al. 1971), provocando la muerte celular de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra que proyectan al estriado y de las del área ventral tegmental que forman parte del sistema dopaminérgico mesolímbico. Se ha propuesto que la acción tóxica de la 6-OHDA es debida a la formación de H_2O_2 , el cual puede ser reducido por la presencia del ión Fe^{2+} por la reacción de Fenton generando

radicales hidroxilo (OH[•]), los cuales son considerados los más dañinos en los organismos vivos, así como quinonas que se producen en su metabolismo (Soto-Otero, et al. 2000). Además de su acción tóxica se ha propuesto que pueden actuar directamente a nivel del complejo I en la cadena respiratoria mitocondrial (Glinka y Youdim, 1995; Glinka, et al. 1996, 1997, 1998), con la consecuente disminución de ATP y por lo tanto la muerte celular. La muerte de las células dopaminérgicas inicia en las primeras 12 horas de la inyección de la neurotoxina y la máxima degeneración aparece entre los 4-6 días de la lesión (Jeon, 1995; Alexi, 2000).

En ratas, la lesión unilateral causa asimetría de la postura, negligencia sensorial contralateral a la lesión, viéndose afectadas sus respuestas olfatorias, táctiles, visuales y auditivas (Ungerstedt, 1971a) y conducta de giro espontáneo o inducida por agonistas dopaminérgicos (Ungerstedt y Arbuthnott, 1970; Ungerstedt 1971a; 1971b).

Se han utilizado la anfetamina y la apomorfina para inducir la conducta de giro. La anfetamina actúa sobre las terminales presinápticas, provocando la liberación de grandes concentraciones de dopamina en el lado no lesionado (contralateral) induciendo hiperactividad, provocando que el organismo gire hacia el lado de la lesión (ipsilateral). La apomorfina actúa sobre las terminales postsinápticas, produciéndose una mayor actividad en el lado ipsilateral de la lesión debido a que la denervación induce una supersensibilidad en los receptores, por lo tanto el animal gira hacia el lado que tiene menos dopamina

(Ungerstedt, 1971a, 1971b; Miller y Beninger, 1991; Hudson, et al. 1993; Alexi, et al. 2000). El número de giros que presenta el animal después del tratamiento, se puede registrar sin dificultad y provee una estimación confiable del grado de depleción de neuronas dopaminérgicas (Hudson, et al. 1993). De acuerdo a esto, si un animal lesionado unilateralmente se le administra apomorfina y se registran 200 giros o 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; Hudson, et al. 1993). La lesión bilateral con 6-OHDA provoca marcada acinesia, afagia y completa falta de atención sensorial, por lo que no es recomendable debido a que los sujetos mueren (Ungerstedt, 1971d).

CONSECUENCIAS DE LA DEPLECIÓN DOPAMINÉRGICA.

La depleción de dopamina, además de inducir alteraciones fisiológicas (Voorn, et al. 1987; Alexander y Crutcher, 1990; Joyce, 1991; Radja, et al. 1993; Qin, et al. 1994; Calabresi, et al. 1993), bioquímicas (Descarries, et al. 1992; Smith, et al. 1993; Ichitani, et al. 1994), produce alteraciones ultraestructurales en el estriado tales como disminución en el porcentaje de botones sinápticos que contienen vesículas granulares pequeñas (Hökfelt y Ungerstedt, 1969), pérdida de espinas dendríticas (Hattori y Fibiger, 1982; Ingham, et al. 1993), alteraciones en el tamaño de los botones sinápticos (Ingham, et al. 1991; Pickel, et al. 1992; Ingham, et al. 1993; Avila-Costa, et al. 1996), presencia de cuerpos multivesiculares, mitocondrias hinchadas y células oscuras (Jedrzejewska, et al. 1990) y cambios en el tipo de contacto sináptico (Forno y Norville, 1979; Ingham et al. 1993), además de la proliferación astrocítica, degeneración axónica y neuritas hiperdensas (Forno y Norville, 1979; Machado-Salas, et al. 1990).

Ahora bien, en estudios realizados en nuestro laboratorio se observó que muestras del núcleo caudado de pacientes con EP (Colín-Barenque, 1994), así como de ratas con depleción dopaminérgica a diferentes tiempos de postlesión por medio la neurotoxina 6-OHDA (Avila-Costa, 1996; Avila-Costa, et al. 1998), presentan alteraciones ultraestructurales muy evidentes en el estriado. Dichas alteraciones consistieron en un incremento del tamaño de los botones presinápticos, cambio en los blancos postsinápticos, mayor número de sinapsis

perforadas, degeneración neuronal caracterizada por la presencia de núcleos distorsionados y citoplasma denso con cisternas dilatadas de retículo endoplasmático liso, reacción glial y axones degenerados, así como un menor número de contactos sinápticos establecidos con espinas dendríticas, observando un patrón de neurodegeneración similar al encontrado en los animales lesionados con 6-OHDA.

JUSTIFICACIÓN.

Por lo anteriormente expuesto, se observa que por un lado los estrógenos tienen un efecto neuroprotector importante, y por otro, que la depleción dopaminérgica unilateral produce alteraciones ultraestructurales en ambos estriados. Dichas alteraciones están relacionadas con las deficiencias motoras, y hasta el momento se desconoce si las hormonas femeninas marcan alguna diferencia a este nivel, aspecto que podría llevarnos a dilucidar alguna estrategia terapéutica diferencial para el tratamiento de la EP.

OBJETIVO GENERAL.

Identificar las diferencias citológicas en un modelo de enfermedad de Parkinson producido con 6-OHDA por sexo.

OBJETIVOS PARTICULARES.

A. Cuantificar mediante la técnica de Inmunocitoquímica para Tiroxina Hidroxilasa el número de neuronas dopaminérgicas en la SNc sobrevivientes después de la lesión con 6-OHDA.

B. Cuantificar el número de espinas dendríticas de las neuronas espinosas estriatales mediante el método rápido de Golgi.

C. Analizar la ultraestructura del estriado después de la lesión con 6-OHDA.

METODOLOGÍA.

Los experimentos se llevaron a cabo en 20 ratas Wistar (10 machos y 10 hembras) de la cepa Wistar, con un peso de entre 190 ± 10 g (3 meses) al inicio del experimento, y se mantuvieron en un ciclo luz-oscuridad 12:12 con libre acceso al agua y al alimento.

Las ratas fueron lesionadas quirúrgicamente de la siguiente manera: Los animales fueron anestesiados con una dosis de 35 mg/kg de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal (i.p.). Una vez anestesiadas, se montaron en un aparato estereotáxico. Las coordenadas estereotáxicas a emplear fueron las siguientes: a partir de Bregma: AP= -3.14 mm; L= 1.8 mm; V= -8.3 mm a partir de la duramadre (de acuerdo Paxinos y Watson, 1986). El grupo experimental fue de 10 ratas (5 machos y 5 hembras), las cuales fueron lesionadas unilateralmente en el haz medial del cerebro anterior (lado izquierdo) con 4 μ l de solución salina que contenía 8 μ g de 6-OHDA y 0.2 mg de ácido ascórbico. El grupo control consistió en igual número de organismo que fueron lesionados en el mismo sitio con 4 μ l de vehículo (solución salina y ácido ascórbico). Ambas soluciones fueron inyectadas con una jeringa Hamilton acoplada a una micropipeta de vidrio con un diámetro de entre 50 y 100 μ m.

Con el propósito de evaluar la conducta de giro de los animales de ambos grupos, se les administró apomorfina a una dosis de 0.25 mg/kg i.p. a los dos días después de la lesión. Se utilizaron sólo aquellos animales lesionados con 6-

OHDA que mostraron más de 200 giros en un periodo de 30 minutos así como las ratas inyectadas con vehículo (que no mostraron conducta de giro).

Los animales de los dos grupos fueron entonces sacrificados bajo anestesia profunda con Pentobarbital sódico dosis letal i.p. a los 30 días de la lesión, vía perfusión intracardiaca por vía aórtica inicialmente con solución salina isotónica para posteriormente aplicar el fijador, que contenía glutaraldehído al 0.2% y paraformaldehído al 2% en buffer de fosfatos con solución salina (PBS) al 0.1 M. Una vez perfundidos, se extrajeron los cerebros y se colocaron en el mismo fijador por dos horas. Posteriormente se tomaron fragmentos del cuadrante dorsomedial de la cabeza del núcleo caudado ipsi y contralateral a la lesión. Después de lavar los fragmentos en PBS, se realizó el procesamiento habitual para microscopía electrónica de transmisión (Apéndice 1). El análisis ultraestructural consistió en la medición de 50 botones presinápticos de ambos caudados considerándose los siguientes parámetros:

- Diámetro del botón presináptico (eje mayor y del eje menor), medido directamente de la pantalla del microscopio electrónico con una cuadrícula puesta en el ocular.
- Estructura postsináptica (espina o dendrita).
- Número de sinapsis perforadas en 50 contactos.

Las pruebas estadísticas que se utilizaron para el análisis de resultados fueron: Para el diámetro de los botones sinápticos, tipo de contacto sináptico y

estructura postsináptica se utilizó la prueba de ANOVA con nivel de significancia de $p < 0.05$.

Asimismo se realizaron cortes histológicos del mesencéfalo ventral (esta región contiene la SNC) de los animales de los 2 grupos para determinar el número de neuronas dopaminérgicas sobrevivientes a través de un conteo en un cuadrante de $1540 \mu\text{m}$ en 7 cortes a partir del inicio del núcleo terminal medial del tracto óptico accesorio, mediante inmunocitoquímica para tiroxina hidroxilasa (Apéndice 2). El análisis estadístico que se utilizó fue la prueba de ANOVA con nivel de significancia de $p < 0.05$.

Por último se tomaron muestras del estriado ipsilateral y contralateral a la lesión para procesarse con el método de tinción rápida de Golgi, para el conteo del número de espinas dendríticas secundarias de las neuronas espinosas medianas. Se contaron 5 dendritas secundarias de 10 neuronas con una reglilla colocada en el ocular, en una longitud de $10 \mu\text{m}$. Para su análisis estadístico se utilizó ANOVA con nivel de significancia de $p < 0.05$.

RESULTADOS.

Como ya se describió anteriormente, la lesión con 6-OHDA produce diversas alteraciones histológicas y ultraestructurales en el neuropilo del núcleo caudado y la SNc. Ahora bien, en el presente trabajo se describe por primera vez que dichas alteraciones son de menor magnitud en las hembras al ser comparadas con los machos.

CITOLOGÍA.

NEURONAS INMUNORREACTIVAS A TH⁺.

Respecto de las neuronas inmunorreactivas a TH⁺ se observó, que entre los grupos control (solución salina) (Tabla 1)(Fig. 4), tanto machos como hembras, no hubo diferencia significativa; presentando una media de 94 ± 1.9 neuronas dopaminérgicas para el grupo control hembras y una media de 87 ± 1.7 neuronas para el grupo control machos (Gráfica 1).

Con relación a los animales lesionados, en ambos grupos (♀ y ♂), con respecto al lado ipsilateral se puede observar una gran pérdida de neuronas dopaminérgicas como consecuencia de la inyección de la 6-OHDA, presentando las hembras ligeramente un mayor número de neuronas ($x=9.5 \pm 1.8$) con respecto a los machos ($x=5 \pm 1.6$) no existiendo diferencia significativa entre ambos (Tabla 1) (Fig. 5).

Ahora bien, con respecto al lado contralateral a la lesión, únicamente en el grupo ♂ se observó pérdida significativa de neuronas inmunorreactivas a TH⁺ ($x=73 \pm 1.7$) como consecuencia de la lesión en comparación con el grupo control, siendo además estadísticamente diferente con el lado contralateral lesionado ♀ ($x= 92.15 \pm 2.0$).

MEDIA DEL NÚMERO DE NEURONAS INMUNORREACTIVAS A TH⁺.

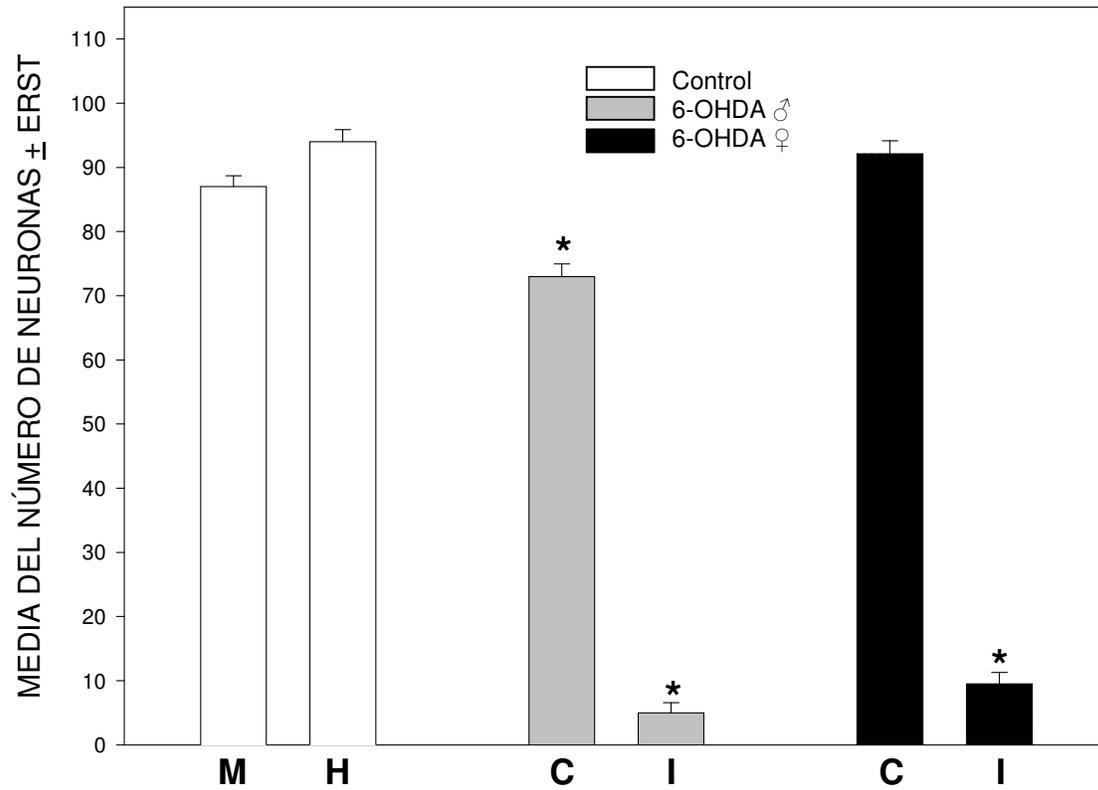
Control Machos	Control Hembras	Lesión Machos (I)	Lesión Hembras (I)	Lesión Machos (C)	Lesión Hembras (C)
87.0 ± 1.7	94 ± 1.9	5.0 * ± 1.6	9.5 * ± 1.8	73 *# ± 1.99	92.15 ± 2.0

Tabla. 1. En esta tabla se muestra la media del número de neuronas inmunorreactivas a tirosina hidroxilasa de la SN ipsi (I) y contralateral (C) a la lesión de los cuatro grupos analizados.

En donde * = P < 0.001 vs control.

= P < 0.001 vs ♀

NÚMERO DE NEURONAS INMUNORREACTIVAS A TIROSINA HIDROXILASA



GRÁFICA 1. En esta gráfica se muestra la media del número de neuronas inmunorreactivas a tirosina hidroxilasa del lado ipsi (I) y contralateral (C) a la lesión de los cuatro grupos analizados (M=machos y H=hembras).

En donde * = $P < 0.001$ vs control.

NEURONAS INMUNORREACTIVAS A TH⁺



Fig. 4. Fotomicrografías que muestran dos cortes de mesencéfalo de un animal del grupo control (A) (10x), donde se observan las neuronas inmunorreactivas a TH⁺ (B) (100x).

NEURONAS INMUNORREACTIVAS A TH⁺



Fig. 5. Fotomicrografías que muestran dos cortes de mesencéfalo de un animal del grupo ♀ lesionado (A) (10x), donde se observa la pérdida de neuronas inmunorreactivas a TH⁺ (B) (100x).

ESPINAS DENDRÍTICAS.

Respecto al número de espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas del estriado, nuestros resultados muestran que el grupo control ♀, tanto para el lado ipsi como contralateral presentó un mayor número de espinas dendríticas con respecto al grupo control ♂ (Tabla 2).

Ahora bien, dentro del grupo control hembras no se observó diferencia significativa entre los lados ipsi ($x= 9.86 \pm 2.82$) y contralateral ($x=9.86 \pm 2.79$) a la inyección de la solución salina, mientras que el grupo control ♂ presentó en el lado ipsilateral una media de 9.08 ± 2.79 y en el lado contralateral con una media de 9.23 ± 2.86 , siendo ambos lados estadísticamente diferentes (Gráfica 2) (Fig. 6).

En la Fig. 7 y 8, se aprecian neuronas espinosas medianas del estriado impregnadas con la técnica de Golgi, donde se observa que el estriado (ipsilateral y contralateral) de ambos grupos (♀ y ♂) existe pérdida de espinas dendríticas con respecto al control como consecuencia de la inyección con 6-OHDA.

Con relación al lado ipsilateral a la lesión, los ♂ presentaron mayor pérdida de espinas en las dendritas secundarias ($x= 6.04 \pm 2.87$) con respecto a las hembras ($x=8.16 \pm 2.77$) siendo estadísticamente diferentes entre ambos grupos (Tabla 2) (Fig. 7).

En el lado contralateral encontramos que los ♂ de igual forma tienen una pérdida mayor de espinas que el grupo ♀, con una media de 8.13 ± 2.91 y de 8.90 ± 2.56 respectivamente. Cabe resaltar que el lado ipsilateral de las hembras (lado lesionado) es muy semejante al lado contralateral (lado no lesionado) del grupo ♂ con 6-OHDA (Fig. 8), no presentado diferencias significativas (Gráfica 2).

De igual forma, en los grupos lesionados tanto en el lado ipsilateral como en el contralateral las espinas dendríticas fueron más abundantes en las hembras que en los machos, conservando en la mayoría de los casos una forma en la que se distinguen su cuello y cabeza; a diferencia de los machos que presentan una forma un poco más filiforme, encontrándose también que las dendritas de las hembras estaban menos dañadas, de manera semejante al grupo control (Fig. 7 y 8).

MEDIA DEL NÚMERO DE ESPINAS DENDRITICAS SECUNDARIAS

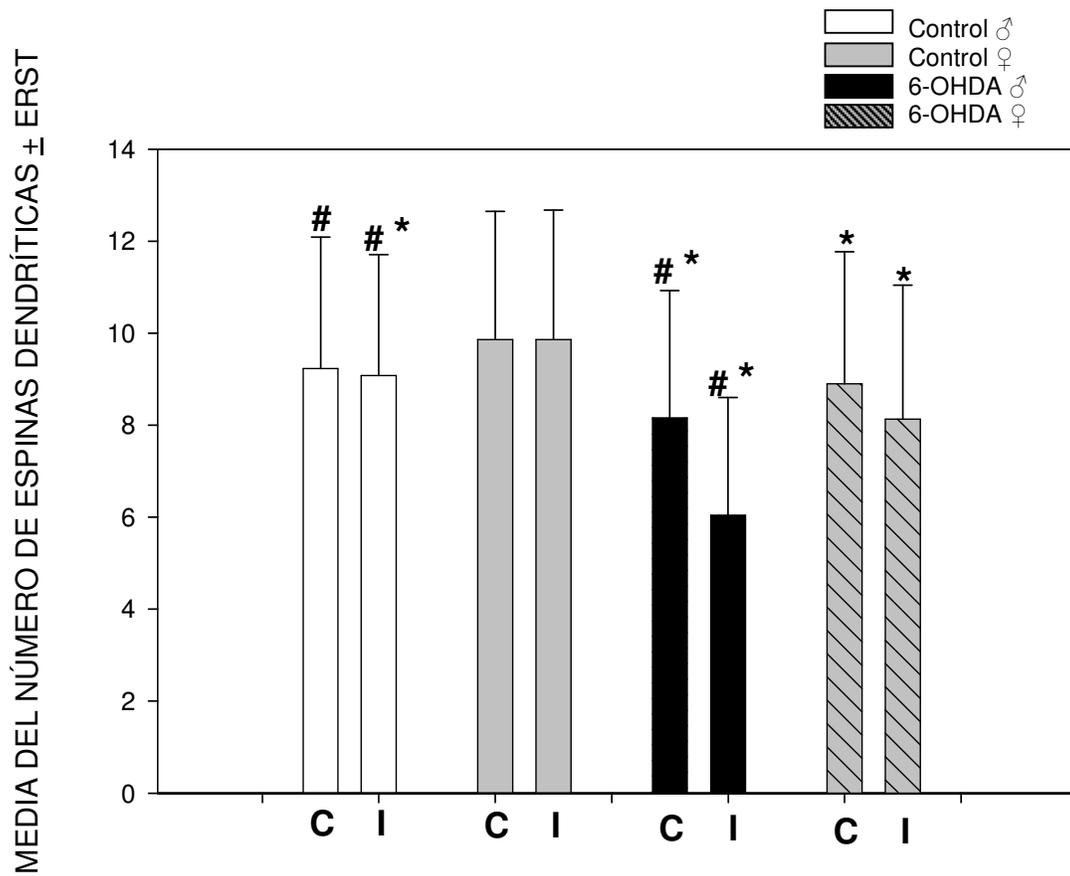
	CONTROL HEMBRAS	CONTROL MACHOS	LESIÓN HEMBRAS	LESIÓN MACHOS
LADO CONTRALATERAL	9.86 ± 2.79	9.23 [#] ± 2.86	8.90 * ± 2.56	8.13 *[#] ± 2.91
LADO IPSILATERAL	9.86 ± 2.82	9.08 *[#] ± 2.79	8.16 * ± 2.77	6.04 *[#] ± 2.87

Tabla. 2. En esta tabla se muestra la media del número de espinas dendríticas del estriado ipsi y contralateral a la lesión de los cuatro grupos analizados.

En donde * = P < 0.001 vs control

= P < 0.001 vs ♀

NÚMERO DE ESPINAS DENDRÍTICAS



GRÁFICA 2. En esta gráfica se muestra la media del número de espinas dendríticas secundarias del estriado de los caudados ipsi (**I**) y contralateral (**C**) a la lesión de los cuatro grupos analizados.

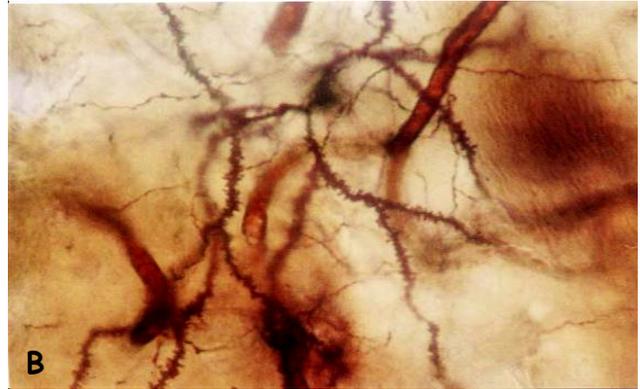
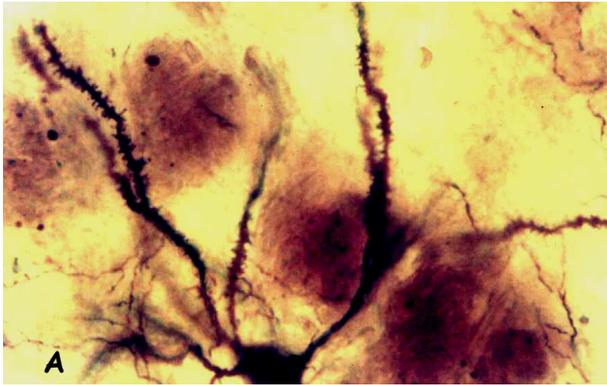
En donde: * = $P < 0.001$ vs control.

= $P < 0.001$ vs ♀

GRUPO CONTROL

MACHO

HEMBRA



MACHO

HEMBRA

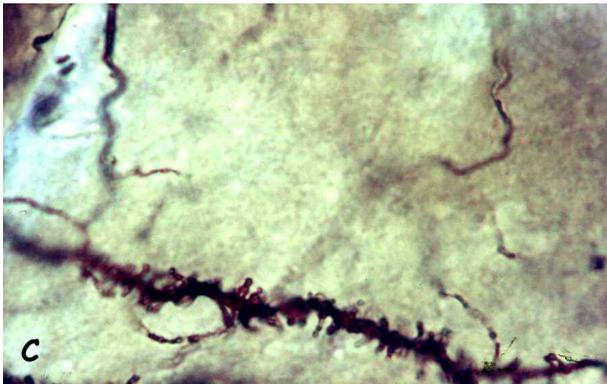
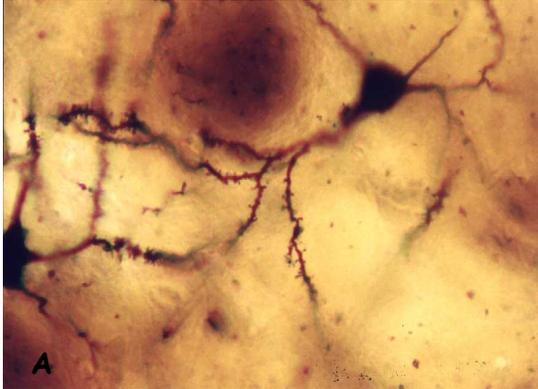


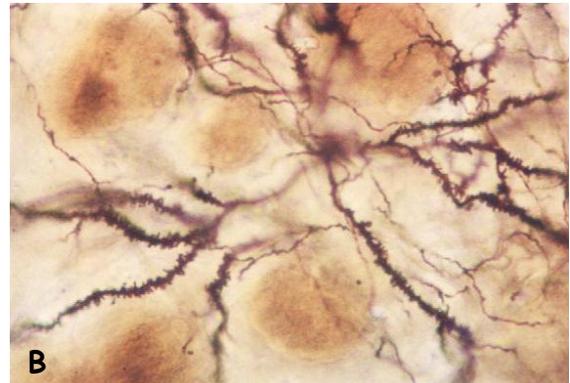
Fig. 6. Fotomicrografías de neuronas espinosas medianas del estriado del grupo control ♂, (A) 400x, (c) 1000x y del grupo control ♀ (B) 400x (D) 1000x.

LESIÓN IPSILATERAL

MACHOS



HEMBRAS



MACHOS



HEMBRAS

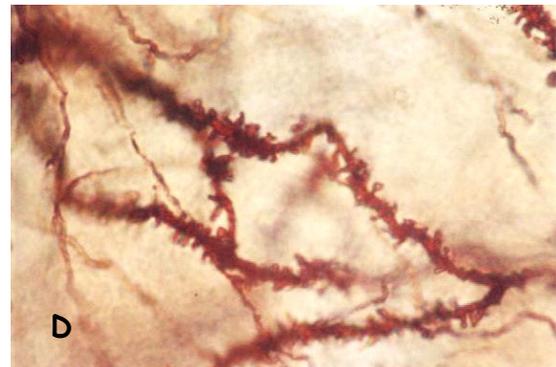
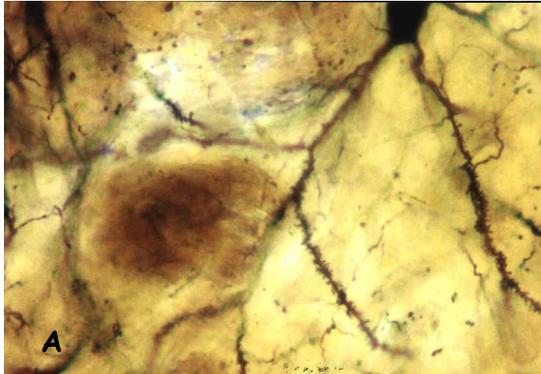


Fig. 7. Fotomicrografías de neuronas espinosas medianas del estriado ipsilateral a la lesión con 6-OHDA, del grupo lesionado ♂ (A) 400x, (c) 1000x y del grupo lesionado ♀ (B) 400x (D) 1000x.

LESIÓN CONTRALATERAL

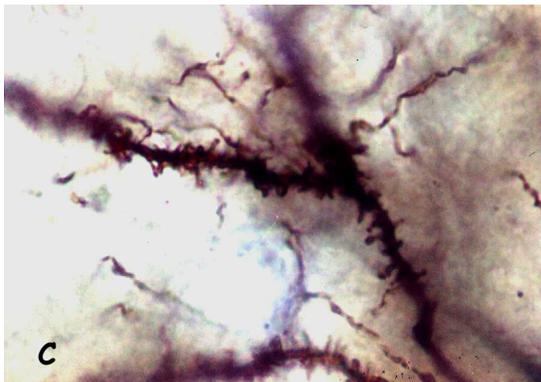
MACHOS



HEMBRAS



MACHOS



HEMBRAS

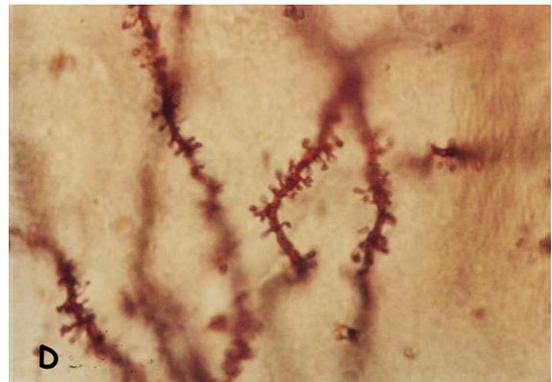


Fig. 8. Fotomicrografías de neuronas espinosas medianas del estriado contralateral a la lesión con 6-OHDA, del grupo lesionado ♂ (A) 400x, (C) 1000x y del grupo lesionado ♀ (B) 400x (D) 1000x.

ULTRAESTRUCTURA

ANÁLISIS DEL DIÁMETRO DE LOS BOTONES SINÁPTICOS

Respecto del diámetro de los botones sinápticos y la integridad del neuropilo, nuestros datos no mostraron ningún cambio aparente en el estriado de los grupos control macho y hembra.

Como se observa en la tabla 3 y 4, los botones sinápticos de las ratas ♂ del grupo control tuvieron una media de 696.8 ± 9.4 en el lado contralateral y de 700 ± 9.6 en el lado ipsilateral para el eje mayor y 474.9 ± 9.6 en el lado contralateral y en el lado ipsilateral la media fue de 477.0 ± 9.6 en el eje menor. Mientras que en el grupo control ♀ la media del tamaño de los botones sinápticos en el eje mayor fue para el lado contralateral de 747 ± 12.4 y el lado ipsilateral fue de 781 ± 13.2 . Mientras que para el eje menor fue de 532 ± 11.27 para el lado contralateral y 566 ± 12.1 , siendo estos valores mayores que los ♂ pero sin presentar diferencias significativas (Gráfica 3) (Fig. 9).

MEDIA DEL DIÁMETRO DE LOS BOTONES SINÁPTICOS

EJE MAYOR

	CONTROL HEMRAS	CONTROL MACHOS	LESIÓN HEMRAS	LESIÓN MACHOS
LADO CONTRALATERAL	747.0 ± 12.4	696.8 ± 9.4	843.0 * ± 10.0	833 * ± 14.6
LADO IPSILATERAL	781.0 ± 13.2	700.0 ± 9.6	1040.0 * ± 11.0	1433 *# ± 18.0

EJE MENOR

	CONTROL HEMRAS	CONTROL MACHOS	LESIÓN HEMRAS	LESIÓN MACHOS
LADO CONTRALATERAL	532.0 ± 11.27	474.9 ± 9.6	626.0 * ± 13.10	581 * ± 12.7
LADO IPSILATERAL	566.0 ± 12.1	477.0 ± 9.6	768.0 * ± 11.0	980 *# ± 16.13

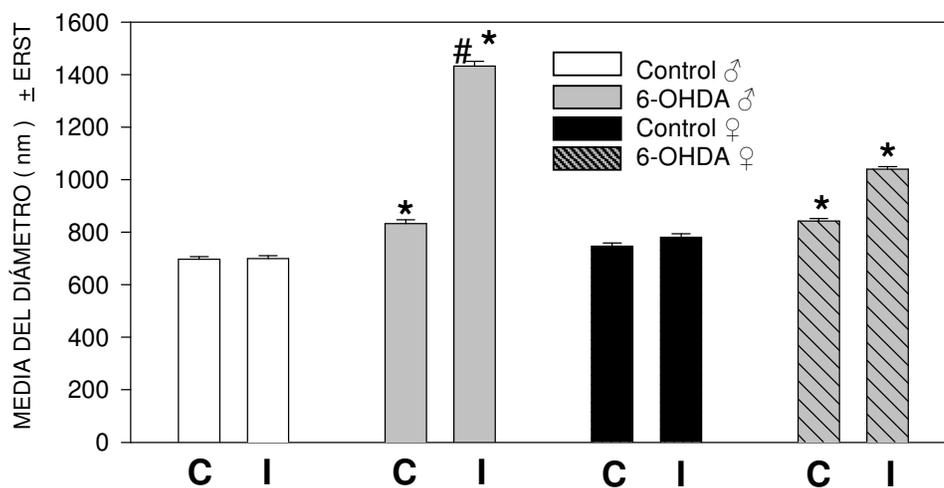
Tabla 3 y 4. En estas tablas se muestra la media del tamaño (μm) de los botones sinápticos, tanto del eje mayor (Tabla 3), como del eje menor (Tabla 4) del estriado ipsi y contralateral a la lesión de los cuatro grupos analizados.

En donde * = $P < 0.001$ vs control

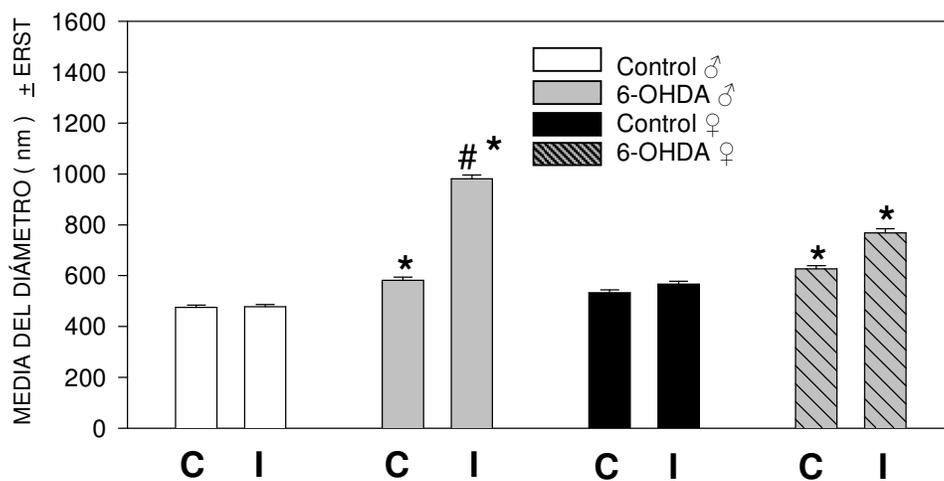
= $P < 0.001$ vs ♀

DIÁMETRO DEL BOTÓN SINÁPTICO

EJE MAYOR



EJE MENOR



GRÁFICA 3. En esta gráfica se muestra la media del tamaño de los botones sinápticos, tanto del eje mayor como del eje menor de los caudados ipsi (**I**) y contralateral (**C**) a la lesión de los cuatro grupos analizados.

En donde: * = P < 0.001 vs control.

= P < 0.001 vs ♀.



Fig. 9. Fotomicrografía del neuropilo del estriado de una rata del grupo control; el cual se observa en buenas condiciones y se pueden apreciar algunos contactos sinápticos (*), mitocodria (m), axón (ax), mielina (—>), dendrita (d). Magnificación 14000 X.

En el estriado ipsilateral a la lesión con 6-OHDA tanto en el grupo de las ♀ como en el de los ♂ el edema de los botones sinápticos fue evidente y estadísticamente significativo con respecto a su control. Sin embargo, se puede observar que el edema fue menor en ♀, tanto para el eje mayor ($x=1040 \pm 11.0$), como para el eje menor ($x=768 \pm 11.0$), con respecto a los ♂, que presentaron en el eje mayor ($x=1433 \pm 18.0$) y el eje menor ($x=980 \pm 16.13$) (Fig. 10 y 11) (Tabla 3 y 4), siendo estadísticamente diferente.

De igual forma observamos que en el estriado contralateral a la lesión en ambos grupos existe incremento en el tamaño de los botones sinápticos, siendo para ambos grupos estadísticamente diferentes con relación al grupo control. Se observa que a diferencia del lado ipsilateral, este edema fue mayor en las ♀, ya que para el eje mayor presentó una media de 843 ± 10.0 y para el eje menor fue de 626 ± 13.0 nm, mientras que en los ♂ la media para el eje mayor fue de 833 ± 14.6 y en el eje menor fue de 581 ± 12.7 (Tabla 3 y 4), no encontrándose diferencias significativas entre ambos grupos.

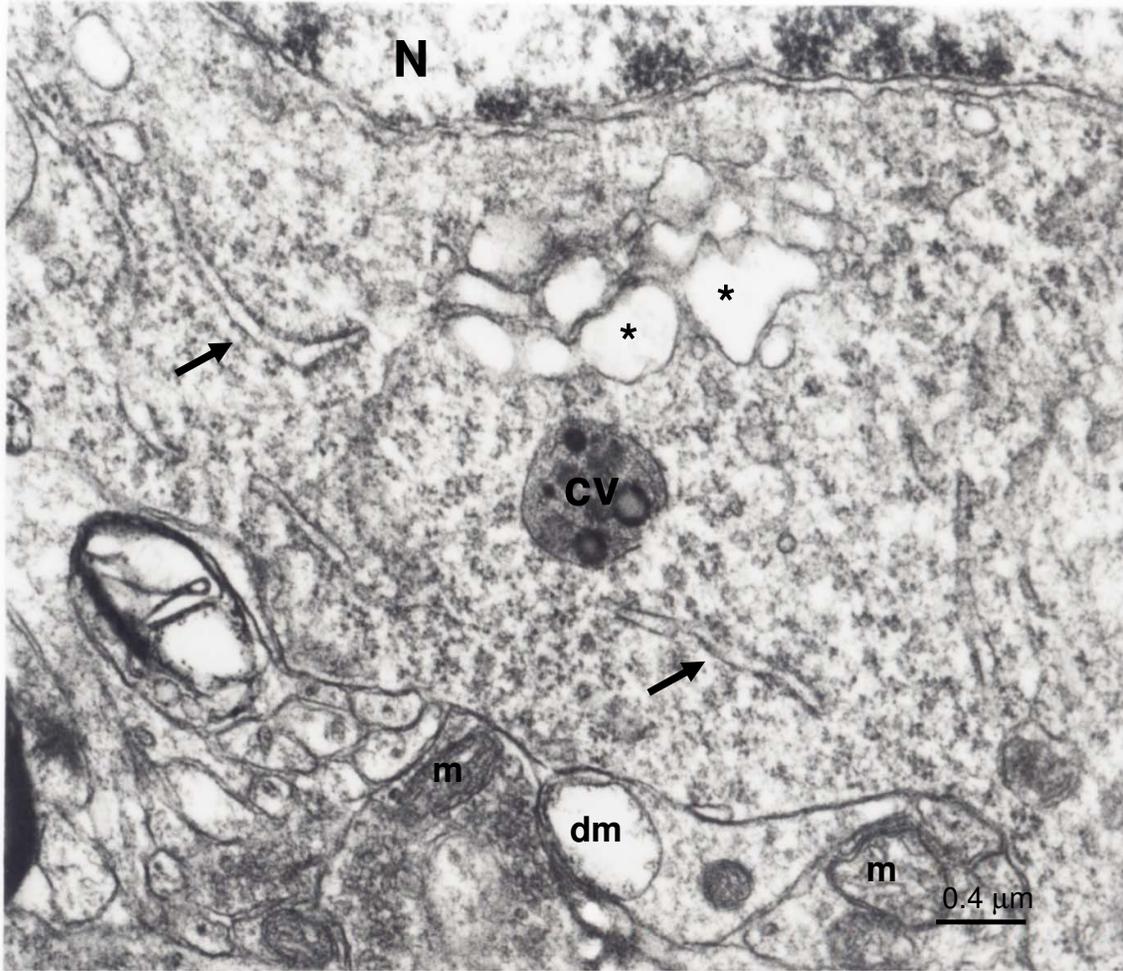


Fig. 10. Fotomicrografía de una parte de una neurona del estriado de un animal del grupo lesionado ♀ con signos evidentes de neurodegeneración, caracterizado por presencia de vacuolas (*) rodeando al núcleo (N), mitocondria (m), retículo → endoplásmico (), degeneración de mitocondrias (dm), cuerpo multivesicular (CV). Magnificación 20000 X.

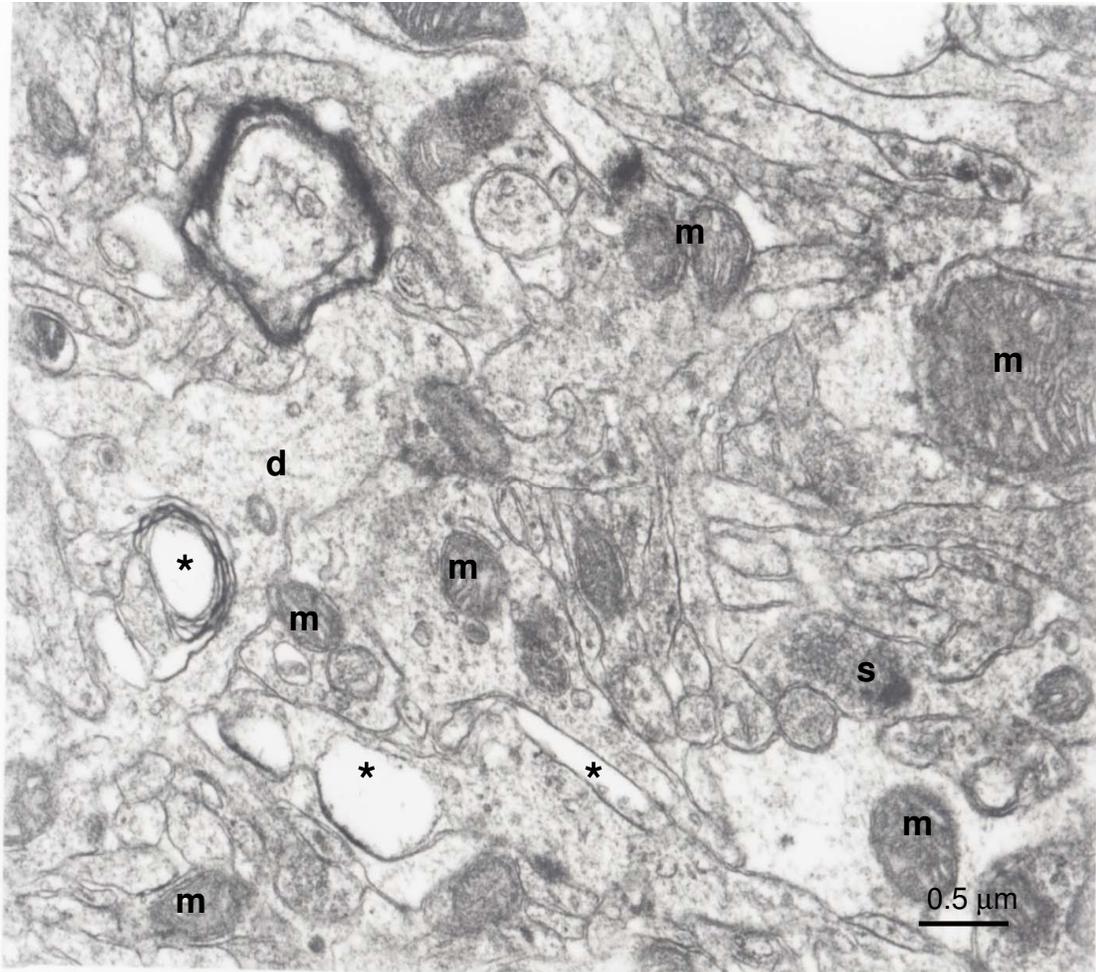


Fig. 11. Fotomicrografía del neuropilo del estriado de un grupo lesionado ♂ con signos evidentes de neurodegeneración, caracterizados por presencia de vacuolas (*), mitocondrias edematizadas (m), dendritas (d), botón sináptico (s). Magnificación 14000 X.

ESTRUCTURA POSTSINÁPTICA.

En la tabla 5 se muestra la media del número total de botones sinápticos que establecieron contacto con las espinas dendríticas. Se puede observar que en el estriado contra e ipsilateral de los grupos control y de las ♀ lesionadas, así como, el lado contralateral del grupo lesionado ♂ presentaron valores semejantes y constantes en el número de contactos establecidos con espinas dendríticas, no existiendo diferencias significativas (Gráfica 5) (Fig. 12, 13). Sin embargo, el caudado ipsilateral de los ♂ lesionados presentó una pérdida significativa de este tipo de contactos ($x=21 \pm 1.6$) siendo estadísticamente diferente con respecto al control y a las hembras lesionadas.

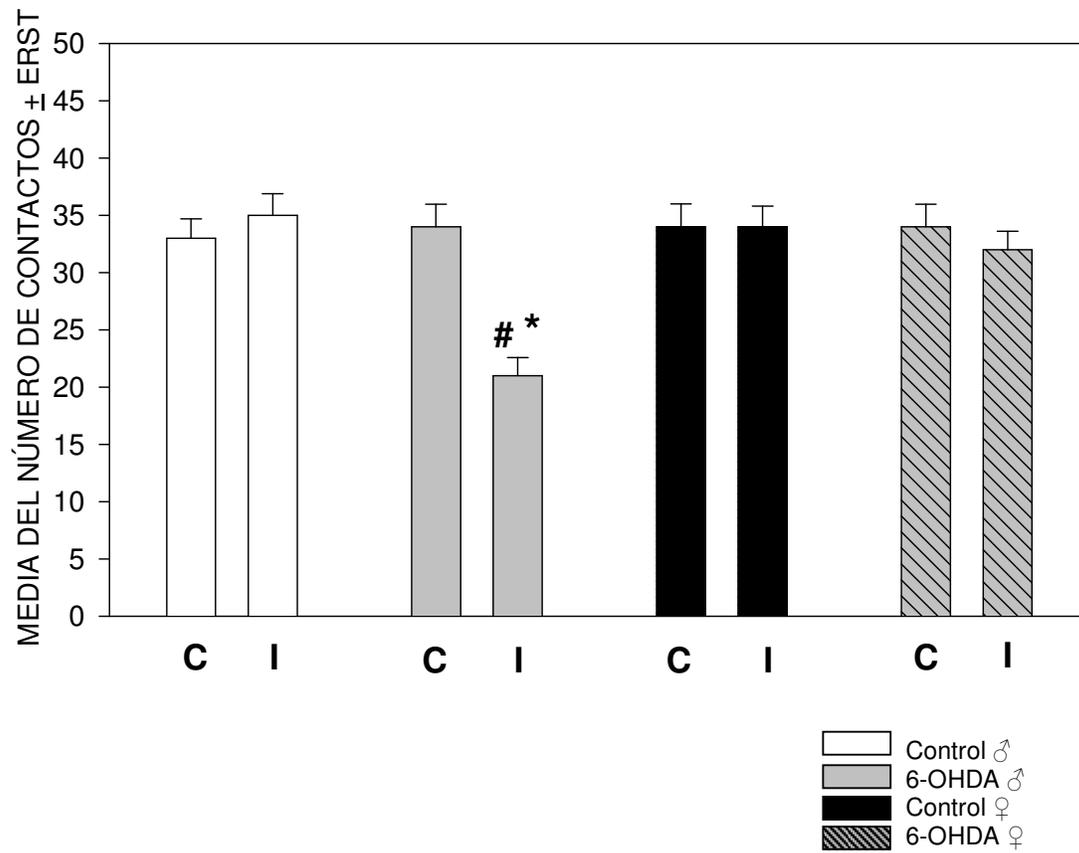
ESTRUCTURA POSTSINÁPTICA

	CONTROL HEMBRAS	CONTROL MACHOS	LESIÓN HEMBRAS	LESIÓN MACHOS
LADO CONTRALATERAL	34 ± 2.0	33 ± 1.7	34 ± 1.0	34 ± 1.99
LADO IPSILATERAL	34 ± 1.8	35 ± 1.9	32 ± 2.0	21^{*#} ± 1.6

Tabla 5. En esta tabla se muestra la media del número total de botones sinápticos que establecieron contacto con espina dendrítica del estriado ipsi y contralateral a la lesión de los cuatro grupos analizados. En donde * = $P < 0.001$ vs control,

= $P < 0.001$ vs ♀

CONTACTOS CON ESPINA DENDRÍTICA



GRÁFICA 4. En esta gráfica se muestra la media del número de contactos con espina dendrítica de los caudados ipsi (I) y contralateral (C) a la lesión de los cuatro grupos analizados.

En donde: * = $P < 0.001$ vs control.

= $P < 0.001$ vs ♀

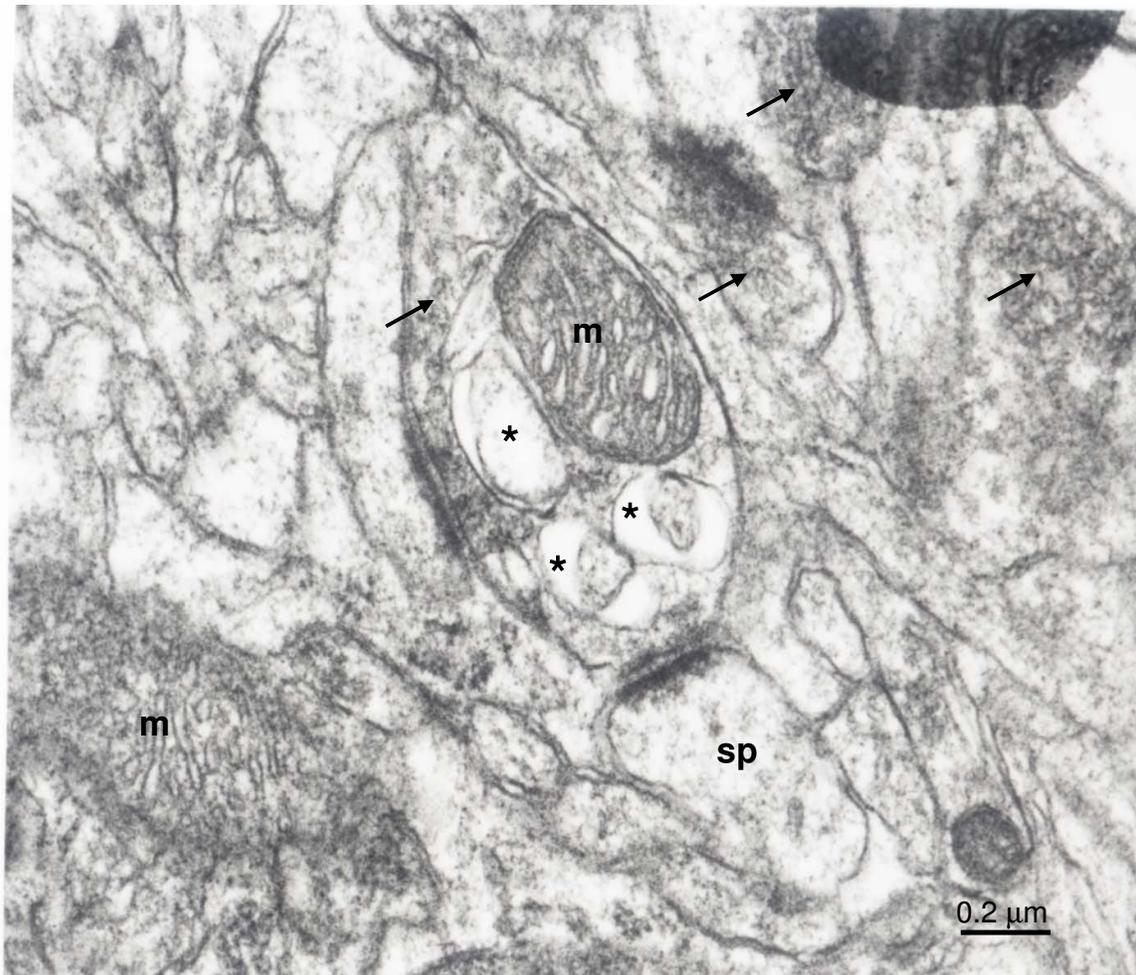


Fig. 12. Fotomicrografía del estriado de una rata grupo lesionado ♂ en el cual se observa un botón con edema y vacuolas (*), así como algunos botones sinápticos, mitocondrias (m), vesículas sinápticas(→), espina (sp). Magnificación 27000 X.

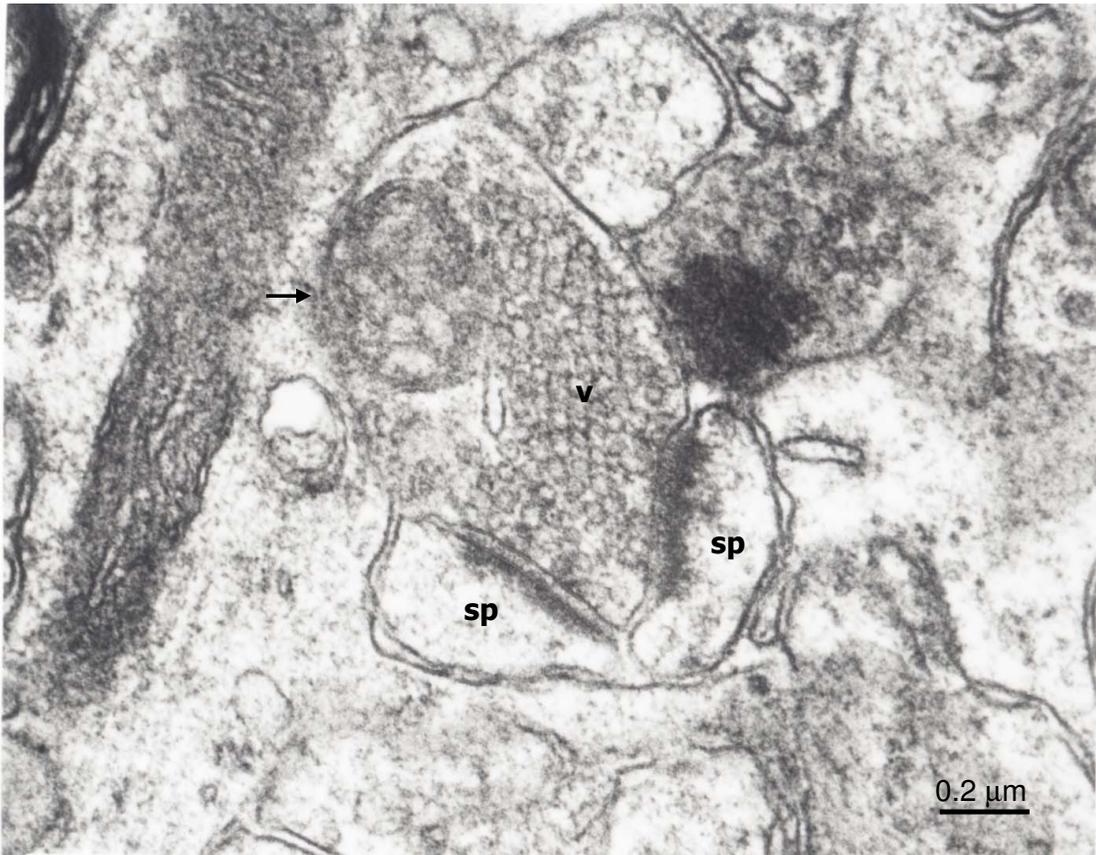


Fig. 13. Fotomicrografía del estriado de un grupo lesionado ♂, donde se observa un botón sináptico con edema (→), vesículas sinápticas (v), espina dendrica (sp). Magnificación 40000 X.

TIPO DE CONTACTO SINÁPTICO.

Otro de los parámetros evaluados en este estudio fue el tipo de contacto establecido entre el botón presináptico y la estructura postsináptica (Tabla 6). La gráfica 6 representa el número de contactos perforados encontrados en los diferentes grupos. Se puede apreciar que existe un aumento de sinapsis perforadas (Fig. 14) en los caudados ipsilateral y contralateral de ambos grupos en las ratas lesionadas con 6-OHDA con respecto al grupo control siendo estadísticamente diferentes, y en el caso de las hembras lesionadas son ligeramente superiores en ambos caudados que los machos lesionados, aunque no son diferentes estadísticamente.

Como observamos anteriormente la depleción de dopamina por la acción de la 6-OHDA ocasiona alteraciones ultraestructurales muy evidentes en el estriado en ambos grupos. Dichas alteraciones consistieron en un incremento en el tamaño de los botones presinápticos, cambio en los blancos postsinápticos, mayor número de sinapsis perforadas, disminución en el número de contactos sinápticos establecidos con espinas dendríticas (Fig. 12, 13), presencia de vacuolas, neuritas hiperdensas, y degeneración axónica.

Sin embargo dichas alteraciones fueron menores en ♀ con respecto a ♂.

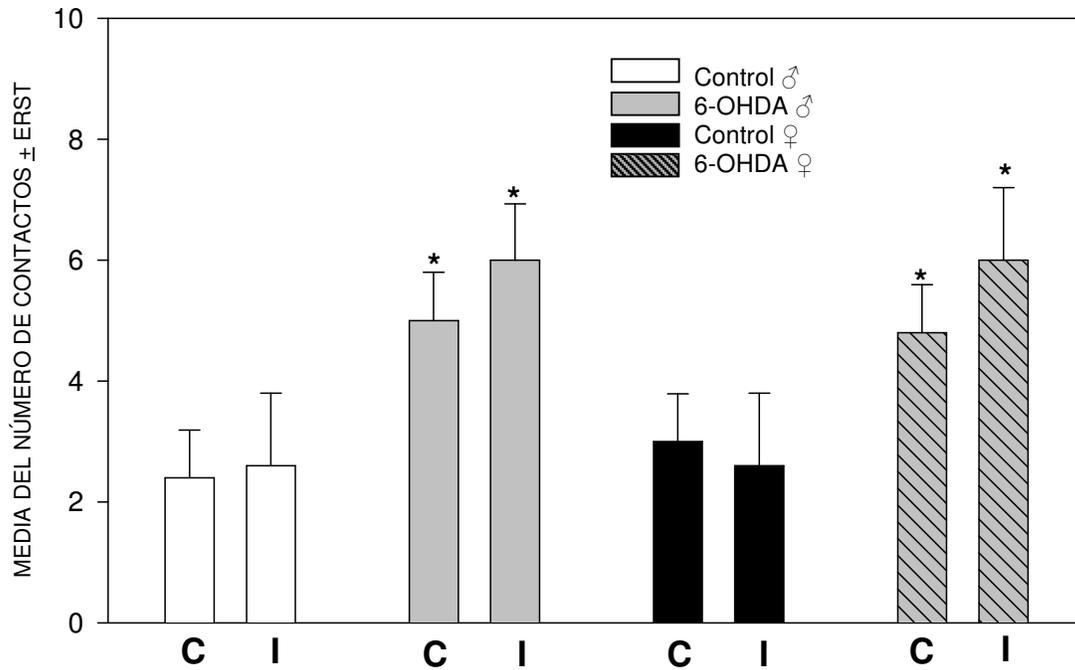
TIPO DE CONTACTO (SIMPLE O PERFORADO)

	CONTROL HEMBRAS	CONTROL MACHOS	LESIÓN HEMBRAS	LESIÓN MACHOS
LADO CONTRALATERAL	3.0 ± 0.79	2.4 ± 1.1	5.0 * ± 0.8	4.8 * ± 0.88
LADO IPSILATERAL	2.6 ± 1.2	2.6 ± 1.3	6.0 * ± 0.93	6.0 * ± 1.6

Tabla 6. En esta tabla se muestra la media del número total de botones sinápticos que establecieron contactos perforados en el estriado ipsi y contralateral a la lesión de los cuatro grupos analizados.

En donde * = P < 0.001 vs control.

SINAPSIS PERFORADAS



GRÁFICA 5. En esta gráfica se muestra la media del número de botones sinápticos que establecieron contactos perforados en los caudados ipsi (**I**) y contralateral (**C**) a la lesión de los cuatro grupos analizados.

En donde: * = $P < 0.001$ vs control.

= $P < 0.001$ vs ♀

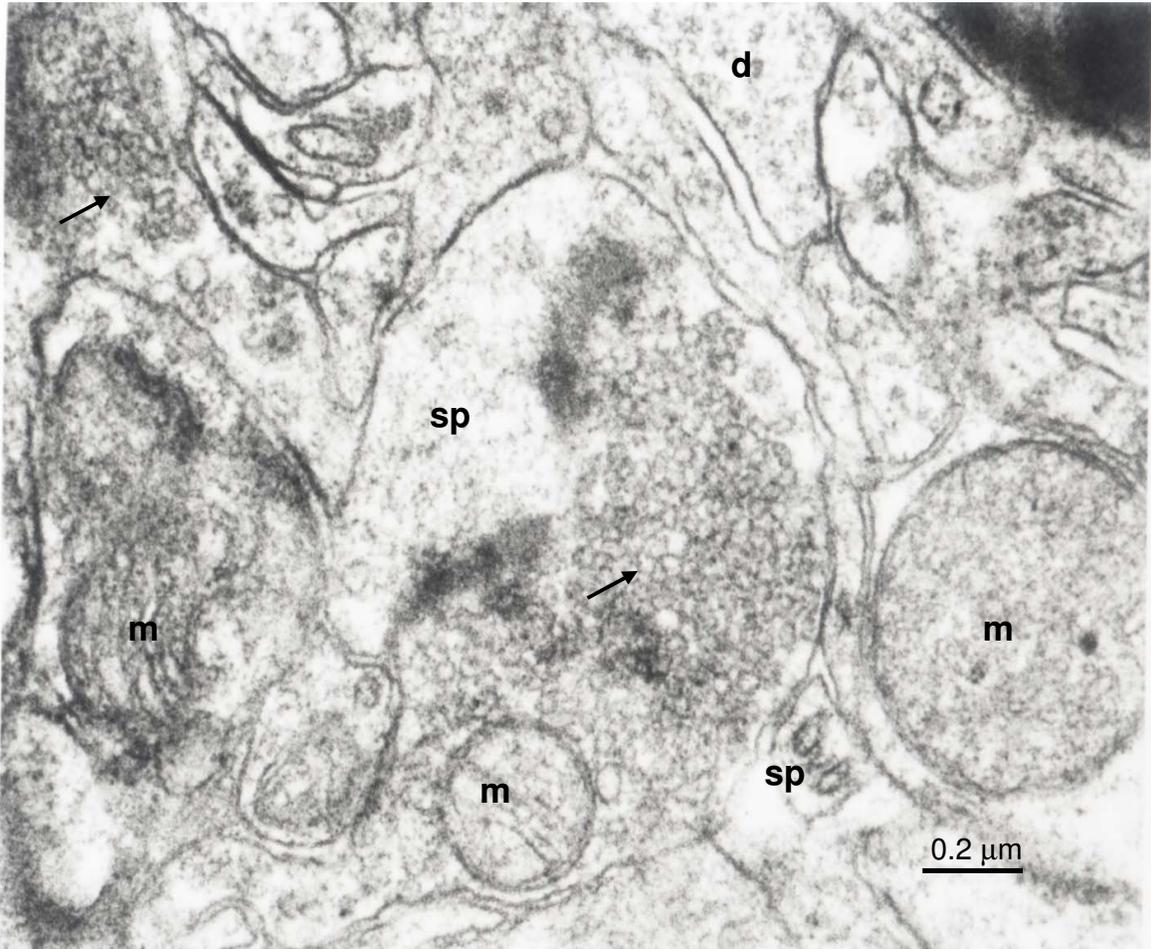


Fig. 14. Fotomicrografía del estriado de un grupo lesionado ♀ donde se observa una sinapsis perforada. Mitocondria (m), espina dendrítica (sp), botón sináptico (→), dendrita (d). Magnificación 40000 X.

DISCUSIÓN

Nuestros datos no mostraron diferencias significativas en el estriado de los grupos control en la mayoría de los parámetros evaluados (exceptuando el grupo control machos en el número de espinas dendríticas). Esto sugiere que no existe efecto de lesión por la sola introducción de la micropipeta e inyección de la solución salina.

INMUNOCITOQUÍMICA.

El análisis inmunocitoquímico reveló que efectivamente la 6-OHDA indujo la muerte de las neuronas dopaminérgicas nigroestriales en más de un 95% en el lado ipsilateral a la inyección de la neurotoxina en ambos grupos experimentales, y en el lado contralateral (aunque la extensión de la degeneración fue mucho menor). Como se ha reportado anteriormente, esta neurotoxina ocasiona la muerte selectiva de estas neuronas dopaminérgicas así como las del área tegmental ventral (VTA) (Ungerstedt, 1968; Zigmond, et al. 1990; Jeon, et al. 1995; Batarbet, et al. 2002; Deumens, et al. 2002; Dauer y Przedborski, 2003).

Como se mencionó anteriormente, aunque el mecanismo molecular preciso de la citotoxicidad de la 6-OHDA permanece todavía en discusión, se han propuesto varias hipótesis. Una de ellas se relaciona con la formación de radicales libres por reacciones de autooxidación de la 6-OHDA formando en

último término radicales OH^{*} (Soto-Otero, et al. 2000), además de su acción sobre la cadena respiratoria mitocondrial, con la consecuente disminución de ATP y por lo tanto la muerte celular (Glinka and Youdim, 1995; Glinka, et al. 1996, 1997, 1998).

Como observamos en nuestros resultados, no existe diferencia significativa en el lado ipsilateral a la lesión entre ♀ y ♂, lo cual puede deberse a que la inyección de la neurotoxina es sumamente agresiva y local, lo que de alguna manera no permite la sobrevivencia mayor de neuronas dopaminérgicas en ambos grupos. Ferrez y col. (2003) tampoco encontraron diferencias significativas entre machos y hembras en cuanto al número de neuronas dopaminérgicas sobrevivientes a la lesión con 6-OHDA, sin embargo, cabe mencionar que ellos utilizaron dosis mucho mayores (6 µg) y realizaron la lesión bilateral en ratas ovariectomizadas.

Ahora bien, nuestros resultados difieren con lo encontrado por Murray y col. (2003), quienes observaron que hay un patrón de muerte celular sexualmente dimórfica (machos-dominante), dosis-dependiente hacia la lesión con 6-OHDA, a nivel de la SNc y el estriado. Sin embargo, estos resultados contradictorios pueden deberse a diferencias metodológicas, ya que ellos utilizan varias dosis (1 µg, 3 µg y 6 µg) de 6-OHDA, mientras que nosotros utilizamos una dosis de 4 µg, superior al rango donde encontraron neuroprotección. Asimismo utilizan el lado contralateral como control, el cual por las diversas observaciones hechas en nuestro laboratorio (Avila-Costa, 1996) y en el presente trabajo no es

recomendable utilizarlo ya que observamos que este lado también es afectado por la inyección con la 6-OHDA. Sin embargo, la diferencia más importante es que Murray y col. sacrifican a sus animales de 7-10 días después de la lesión, siendo posible que los estrógenos protejan de alguna manera las neuronas dopaminérgicas sobrevivientes por un corto periodo, pero finalmente es probable que estas células mueran posteriormente (Ferrez, et al. 2003) como consecuencia de la acción de la neurotoxina la cual es sumamente agresiva.

Con respecto al lado contralateral a la lesión, como se refirió solo el grupo ♂ lesionado presentó diferencias con respecto al control y a las hembras (posteriormente analizaremos las diferencias entre lados ipsi y contralateral). Esto probablemente se debe a que una de las características de los estrógenos (estradiol) presente en las ♀, ejerce efectos antioxidantes que le confiere el grupo hidroxilo en el C3 del anillo A de la molécula esteroide y es independiente de la activación de receptores específicos para estradiol (Behl, et al. 1997; Moosmann y Behl, 1999), disminuyendo probablemente la acción de los ROS por efecto de la inyección de la neurotoxina.

Otra posibilidad es que el Sistema Transportador de Dopamina (DAT), que representa el mayor mecanismo por el cual la dopamina es eliminada de las sinapsis (el cual es un elemento crucial involucrado en la regulación de la transmisión dopaminérgica) (Jaber, et al. 1997), tiene también la capacidad de transportar ciertas neurotoxinas como el MPP⁺ (Heikkila, et al. 1985) y la 6-OHDA (Schwartzing y Huston, 1996) en las neuronas; por lo que se ha

establecido que juega un papel importante en procesos neurodegenerativos, observándose que inhibidores de este transportador disminuyen la neurotoxicidad producida por estas sustancias (Ricaurte, et al. 1985; Clark y Reuben, 1995). Ahora bien, se ha propuesto que los estrógenos pueden regular la actividad del DAT. Bossé, et al. 1997 analizaron la densidad de DAT en el estriado y en el núcleo acumbens y observaron que en ratas ovariectomizadas la densidad del DAT con respecto a sus controles (ratas intactas) disminuyó. Disshon, et al. 1998 proponen que los estrógenos modifican la K_m , pero no la V_{max} del transportador sugiriendo un decremento en la afinidad por parte del receptor hacia la dopamina; en ambos casos estos cambios mantendrían parcialmente los niveles de DA y de alguna manera se mantendría la actividad nigrostriatal; asimismo, esto disminuiría la captura de la 6-OHDA, disminuyendo por lo tanto la posibilidad de neurodegeneración y de esta manera influyendo en la mayor sobrevivencia encontrada en el lado contralateral del grupo lesionado ♀.

ALTERACIONES EN EL NÚMERO DE ESPINAS DENDRÍTICAS.

La mayor composición celular (aprox. 95%) en el estriado está dada por las llamadas "neuronas espinosas medianas de proyección", las cuales reciben aferencias excitatorias (glutamatérgicas) de la corteza, tálamo y amígdala (DiFiglia, et al. 1980; Groves, 1980; Somogyi, et al. 1981; Gerfen, 1988; Blandini, et al. 2000), así como aferencias dopaminérgicas provenientes de la SNc y el área tegmental ventral (Blandini, et al. 2000). Nuestros resultados

mostraron que la deaferentación causada por la inyección de la 6-OHDA, provocó tanto en el estriado ipsilateral a la lesión como en lado contralateral de ambos grupos pérdida de espinas dendríticas en las neuronas espinosas medianas, lo cual se ha observado en modelos animales lesionados con 6-OHDA, así como en pacientes que cursaron con la EP (McNeill, et al. 1988; Ingham, et al. 1989; Ingham, et al. 1993) corroborando que ante cualquier agresión del sistema nervioso, uno de los primeros datos morfológicos que se tienen es la pérdida de espinas dendríticas (Colín-Barenque, et al. 1999; Avila-Costa, et al. 1999 2001; Fiala, et al. 2002; González-Burgos, 2004; Gutiérrez-Valdez, 2004; entre otros).

Ahora bien, la pérdida de espinas podría ser un mecanismo compensatorio como consecuencia de la deaferentación ocasionada por la lesión con 6-OHDA, ya que como se ha observado la liberación de glutamato en el estriado al estar modulada en parte por las aferencias nigroestriatales (Calabresi, et al. 1997; Grenhoff y Jonson, 1997; Cepeda y Levine, 1998), al perderse esta regulación (disminución de dopamina estriatal) se provocaría un incremento en los niveles extracelulares del glutamato extracelular (Calabresi, et al. 1993; Meshul, et al. 1999), este incremento en los niveles de glutamato podría deberse como se ha observado a partir de estudios de electrofisiología a que la inhibición de los receptores D₂ causa un incremento en los niveles basales extracelulares de glutamato y potasio (Yamato y Cooperman, 1994), asimismo, aunque se ha sugerido que la inhibición moduladora está mediada por la activación de los receptores D₁ Kiyatkin y Rebec en 1999 mostraron que la

administración de un antagonista específico de receptores D₁ (SCH-23390) pero no de los receptores D₂ incrementaba de igual forma la liberación de glutamato, el cual es el aminoácido excitatorio más importante del sistema nervioso central que podría llevar a procesos de muerte celular por excitotoxicidad (Trump y Berezsky, 1995; Kucukkaya, et al. 1996; Oyama, et al. 1996; Shepherd, 1996; Dykens, 1999; Leist y Nicotera, 1999).

Se ha propuesto que la "sobreactivación" de los receptores NMDA como consecuencia del incremento en los niveles de Ca²⁺ originaria la activación de la calcineurina ocasionando una reorganización de los filamentos de actina (F-actina) con la subsecuente contracción o colapso de las espinas dendríticas (Segal, 1995b; Halpain, et al. 1998; van Rossum y Hanish, 1999), esta disminución o pérdida de espinas como se mencionó anteriormente podría ser un mecanismo compensatorio, ya que de esta manera disminuiría el número de contactos sinápticos excitatorios con la consecuente disminución del influjo de Ca²⁺ intracelular (Furukawa, et al. 1995; Segal, 1995a; Trump y Berezsky, 1995; Kucukkaya, et al. 1996; Oyama, et al. 1996; Dykens, 1999; Leist y Nicotera, 1999).

Con respecto a las diferencias entre géneros encontradas en los grupos control y lesionados tenemos como antecedentes que Woolley, et al. (1990) observaron que la densidad de espinas dendríticas en el hipocampo (un área del cerebro que no es particularmente asociada con la conducta sexual), variaba marcadamente a través del ciclo estral mostrando un pico durante el

proestro (los niveles de estrógenos son más elevados) y disminuyendo durante el estro. Varios autores han observado que los estrógenos regulan la formación de espinas (McEwen, et al. 2001; Segal y Murphy, 2001; Gazzaley, et al. 2002) a través de alguno de los siguientes mecanismos:

a. Los estrógenos incrementan la fosforilación de CREB (proteína ligada a la respuesta del AMPc), es indispensable para la formación de nuevas espinas dendríticas.

b. La exposición de cultivos neuronales a estrógenos produce una disminución (cerca del 80 %) en el contenido de GAD de las interneuronas, más aun, las corrientes miniatura inhibitorias postsinápticas (IPSCs) fueron reducidas en tamaño y frecuencia, mientras que las EPSCs incrementaron en frecuencia, lo que llevaría a un incremento excitatorio en las neuronas piramidales del hipocampo y por lo tanto un mecanismo para formar nuevas espinas.

c. El BDNF (Factor Neurotrófico Derivado de Cerebro) es inhibido por el estradiol, lo cual resulta en un decremento en GAD65 (una isoforma de GAD) llevando a una disminución de IPSCs y como se vio anteriormente llevaría a la formación de nuevas espinas.

Ahora bien si tomamos en cuenta que el 95% de las neuronas estriatales son las neuronas espinosas medianas GABAérgicas, podríamos pensar que mecanismos semejantes a los encontrados en el hipocampo estén ocurriendo

en este modelo y por lo tanto sería la consecuencia de las diferencias encontradas entre machos y hembras.

EDEMA DE LOS BOTONES SINÁPTICOS.

Nuestros resultados demostraron que la depleción unilateral de la vía nigroestriatal provoca un incremento en el tamaño de los botones sinápticos del estriado tanto en el lado ipsilateral como contralateral de los dos grupos experimentales, siendo estadísticamente menor en las hembras.

El edema presente en los botones sinápticos tanto en machos como en hembras puede ser debido a que la lesión unilateral con 6-OHDA en el haz medial del cerebro anterior, causa una completa o casi completa destrucción de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales y sus terminales en el estriado; ya que las terminales nerviosas dopaminérgicas y glutamatérgicas establecen contacto sináptico con las neuronas espinosas medianas gabaérgicas, la depleción de la dopamina como consecuencia de la lesión afecta la función de estas últimas (Meshul, et al. 1999) ya que se ha sugerido que la dopamina mantiene de alguna manera la integridad estructural de las membranas del sistema (Arbuthnott e Ingham, 1993) y ante la pérdida de ésta como consecuencia de la lesión, los botones sinápticos restantes degeneren y ocupen mayor espacio.

Ingham y cols. 1991 reportaron que al eliminar unilateralmente la vía nigroestriatal, el diámetro de los botones encefalinérgicos aumentó significativamente y proponen que este hinchamiento puede ser un mecanismo compensatorio, ya que como se ha observado el efecto de la encefalina es inhibitoria, el aumento de las "zonas activas" puede llevar a una mayor liberación de este neurotransmisor teniendo por lo tanto efecto inhibitorios sobre sus blancos postsinápticos, compensando de alguna manera la excitabilidad que se ve incrementada como consecuencia de la lesión con la 6-OHDA.

Ahora bien, en cuanto al menor tamaño de los botones sinápticos en hembras (edema), se ha visto que los estrógenos presentes en las células gliales (astrocitos) estimulan la actividad de la glutamina sintetasa, por medio de la activación de los receptores específicos al estradiol, lo que llevaría a la conversión de glutamato a glutamina que es considerada como no tóxica (Shy, et al. 2000), lo que de alguna manera podría permitir al estriado regresar a un balance, evitando mayor daño sobre las neuronas estriatales restantes como consecuencia de las alteraciones provocadas por el exceso de Ca^{2+} como se mencionó anteriormente.

TIPO DE CONTACTO.

Nuestros resultados mostraron que el estriado ipsilateral a la lesión en el grupo de las ratas macho presentó una disminución en el número de contactos con

espinas, lo cual ha sido reportado por Ingham y cols. (1989, 1991, 1993) y Avila-Costa (1996). Esto podría corresponder a la pérdida de espinas dendríticas en las neuronas espinosas medianas que observamos por medio de la tinción de Golgi.

Sin embargo, la pérdida de contactos con espinas en el grupo lesionado de las ratas hembras se mantuvo parecida al control, aun cuando el número de espinas dendríticas observadas por la técnica de Golgi disminuyó significativamente con respecto al control. Esto podría deberse a que el análisis a nivel histológico es individual (es decir, existen ciertas neuronas que presentaron gran pérdida de espinas, pero no todas), probablemente estas neuronas con pérdida de espinas estaban entrando en procesos necróticos, perdiendo en primer término sus espinas dendríticas, teniendo el resto de las neuronas el suficiente número de espinas para que los botones aferentes establecieran contactos en ellas; o también podría deberse a que es un mecanismo compensatorio, ya que al disminuir el número de espinas, las neuronas restantes tenderían a conservar el mayor número de contactos con espinas para evitar la excitotoxicidad.

SINAPSIS PERFORADAS.

Como observamos en nuestros resultados existe un incremento en el número de sinapsis perforadas con respecto al grupo control en ambos grupos (no siendo estadísticamente diferente entre ♂ y ♀), lo cual concuerda con lo

observado en nuestro laboratorio (Avila-Costa, 1999; Ordóñez-Librado, 2004), así como en modelos de lesión unilateral de la corteza entorrinal (Nieto-Sampedro, et al. 1982) entre otros (Carlin y Siekewitz, 1983; Geinisman, et al. 1992).

Este tipo de sinapsis han sido consideradas como estados intermediarios durante el proceso de división sináptica (aunque este punto se encuentra todavía en especulación (Carlin y Siekewitz, 1983), también se han propuesto como posibles indicadores de una remodelación sináptica (Anglade, 1996) observándose en la neocorteza a partir del día 19 (Itarat y Jones, 1992), y en el 7º día postnatal de ciertos animales (Harris, et al. 1999), asimismo se ha sugerido que las sinapsis perforadas pueden funcionar para incrementar la superficie de la densidad postsináptica (PSD) y por lo tanto hacer mas eficiente el proceso de neurotransmisión por lo que probablemente su incremento en los grupos analizados puede ser debido a que es un mecanismo de plasticidad cerebral ante la lesión provocada por la 6-OHDA.

ALTERACIONES EN EL ESTRIADO CONTRALATERAL.

Las alteraciones del estriado contralateral en ambos grupos consistieron en disminución en el número de neuronas inmunorreactivas a TH⁺ como consecuencia de la 6-OHDA, disminución en el número de espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas, incremento en el tamaño de los botones sinápticos, disminución en el número de contactos con espinas dendríticas e

incremento en el número de sinapsis perforadas. Sin embargo, las alteraciones en el grupo hembras en todos los parámetros observados fueron de menor magnitud. La explicación de lo anterior, podría deberse a las evidencias de que la vía dopaminérgica nigroestriatal proyecta ipsi y contralateralmente, siendo la proyección contralateral aproximadamente del 5% al 10% del número total de neuronas que proyectan al estriado ipsilateral (Fass y Butcher, 1981; Loughlin y Fallon, 1982). Entonces, la lesión unilateral podría provocar alteraciones en el estriado contralateral a través de la pequeña porción de células que proyectan al estriado no lesionado.

En este sentido, Avila-Costa (1996) reportó que existe una lateralización del estriado contralateral como consecuencia de la denervación ocasionada por la 6-OHDA.

CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos observamos que la lesión con 6-OHDA provocó alteraciones citológicas y ultraestructurales, como edema de los botones presinápticos, pérdida de espinas dendríticas en las neuronas espinosas medianas, disminución de contactos con espinas, aumento en el número de sinapsis perforadas y pérdida de neuronas dopaminérgicas en la SNc.

El lado contralateral también sufre alteraciones, esto probablemente a la existencia de la vía cruzada, por lo que no es recomendable utilizarlo como control.

Existe una diferencia entre sexos cuando se lesiona con 6-OHDA, siendo el daño menor y estadísticamente diferente en las hembras con respecto a los machos, pudiéndose atribuir esta diferencia a la presencia de los estrógenos.

Cabe mencionar que en los últimos años se ha relacionado la menopausia y algunas enfermedades degenerativas que cursan con deterioro en los procesos mnésicos, con alteraciones en la plasticidad cerebral. (Olanow, 1993; Villa-Pastor, 2001; Alberca, et al. 2002). Más aun, la terapia sustitutiva hormonal (TSH) parece disminuir el riesgo y/o la severidad de estas enfermedades, además de mejorar la memoria y la cognición (Wise, 2001). En los dos últimos siglos el promedio de vida en las mujeres se ha incrementado, mientras que la

edad de inicio de la menopausia se mantiene constante. Consecuentemente, un gran número de mujeres pasa la mayor parte de su vida en un estado hipoestrogénico por lo que es necesario realizar más estudios referentes a la acción de los estrógenos dentro del sistema nervioso central y en particular su relación con las enfermedades neurodegenerativas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acheson, A. I., Zigmond, M. J. Stricker, E. M. 1980. Compensatory increase in tyrosine hydroxylase activity in rat brain after intraventricular injection of 6-hydroxidopamine. *Science*. 197: 596-598
- Alberca, R., Montes-Latorre, E., Gil-Néciga, E., Mir-Rivera, P. y Lozano-San Martín, P. 2002. Enfermedad de Alzheimer y mujer. *Rev. Neurolol.* 33 (6): 571-579.
- 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, M. D. 1990. Functional architecture of basal ganglia circuits: Neural substrates of parallel processing. *TINS.* (13) 7: 266-271
- Alexi, T., Borlongan, C. V., Faull, R. L. M., William, C. E., Clark, R. G., Gluckman, P. D. y Hughes, P. E. 2000. Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's disease. *Progress in Neurobiology* 60: 409-470.
- Álvarez, G. E., Álvarez, G. L., Macías, G. R. y Pavón F. N. 2001. Conceptos Actuales sobre la Función de los Ganglios Basales y el papel del Núcleo Subtalámico (NST) en trastornos del movimiento. *Revista Mexicana de Neurociencias.* 2(2): 77-85
- Anaya, M. V. 1997. Estudio morfofuncional comparativo entre los trasplantes de médula adrenal colocados en el ventrículo lateral o en el parénquima estriatal. Tesis para obtener el grado de Maestra en neurociencias. ENEP- Iztacala. UNAM.
- Andrén-Sanberg, A., Hoem, D. y Päckman, P. L. 1999. Other risk factors for pancreatic cancer: Hormonal aspects. *Annals of Oncology.* 10 (Suppl 4): S131-S135
- Anglade, P. S., Tsui, F., Javoy-Agid y Hirsch, E. C. 1995. Plasticity of a nerve afferent to nigrostriatal neurons in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 37: 265-272
- Arai Y., Sekine, Y. y Murakami, S. 1996. Estrogen and apoptosis in the developing sexually dimorphic preoptic area in female rats. *Neuroscience Research.* 25: 403-407
- Araki, T., Tanji, H., Kato, H. y Itoyama, Y. 1998. Sequential changes of dopaminergic receptors in the rat brain alter 6-hydroxidopamine lesions of the medial forebrain bundle. *Journal of Neurological Science.* 160: 121-127
- Arbuthnott, G. W. e Ingham, C. A. 1993. The thorny problem of what dopamine does in psychiatric disease. En: Arbuthnott, G. W. y Emson, P. C. (Eds.) *Progress in Brain Research.* Vol. 99. Elsevier Science Publishers B. V.: 341-350
- Arnold, A. y Gorski, R. 1984. Gonadal steroid induction of structural differences in the nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.* 7: 413-442
- Avila-Costa, M. R. 1996. Evolución de las alteraciones ultraestructurales del neurópilo del núcleo caudado de rata después de la lesión unilateral de la vía nigroestriatal con 6-Hidroxidopamina. Tesis para obtener el grado de Maestra en neurociencias. ENEP-Iztacala. UNAM.

- Avila-Costa, M. R., Colín-Barenque, L., Espinosa-Villanueva, J., Machado-Salas, J. P. 1998. Degeneración del neurópilo del núcleo caudado en la EP y en el modelo experimental provocado con 6-OHDA: análisis ultraestructural comparativo. *Patología*. 36: 297-301
- Avila-Costa, M. R., Colín-Barenque, L., Fortoul, T. I., Machado-Salas, J. P., Espinosa-Villanueva, J., Rugerio-Vargas, C. y Rivas-Arancibia, S. 1999. Memory deterioration in an oxidative stress model and its correlation with cytological changes on rat hippocampus CA1. *Neurosci. Lett.* 270: 107-109
- Avila-Costa, M. R. 2001. Efecto de la Taurina en el Sistema Nervioso de la rata expuesta 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. México, D. F.
- Azcoitia, I., DonCarlos, L. L. y García-Segura, L. M. 2002. Estrogen and brain vulnerability. *Neurotoxicity Research*. 4 (3): 235-245.
- Bjarkam C.R., Sørensen J.C., Sunde N. Å. Geneser F.A. y Østergrd K. 2001 New strategies for the treatment of Parkinson's disease hold considerable promises for the future management of neurodegenerative disorders. *Biogerontology* 2: 193-207.
- Behl, C., Widmann, M., Trapp, T. y Holsboer, F. 1995. Biochemical and biophysical research communications. 216 (2): 473-482
- Behl, C., Skutella, T., Lezoualc'h, F., Post, A., Widmann, M., Newton, C. J. y Holsboer, F. 1997. *Molecular pharmacology*. 51: 535-541.
- Betarbet, R., Sherer, T. B. Y Greenamyre, J. T. 2002. Animal models of Parkinson's disease. *BioEssays* 24: 308-318
- Beyer, C., Pilgrim, C. y Reisert, I. 1991. Dopamine content and metabolism in mesencephalic and diencephalic cell cultures.: Sex differences and effect of sex steroids. *Journal of Neuroscience*. 11: 1325-1333
- Beyer, C. 1999. Estrogen and the developing brain. *Anat. Embryol.* 199: 379-390
- Beyer, C. Y Karolczak, M. 2000. Estrogenic Stimulation of Neurite Growth in Midbrain Dopaminergic Neurons Depends on cAMP/Protein Kinase A Signalling. *Journal of Neuroscience Research*. 59: 107-116
- Blandini, F. Nappi, G., Tassorelli, C. y Martigoni, E. 2000. Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology*. 62: 63-88.
- Bolam, J. P., Smith, A. D. Y Wainer, B. H. 1984. Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combined of choline acetyltransferase immunocytochemistry. Golgi impregnation and electron microscopy. *Neurosci.* 12: 711-712
- Bonifati, V., Rizzu, P., Van Baren, M. J., Schaap, O., Bredveld, G. J., Krieger, E., Dekker, M. C., Squitieri, F., Ibanez, P., Joosse, M., van Dongen, J. W., Vanacore, N., van Swieten, J. C., Brice, A., Meco, G., Van Duijn, C. M., Oostra, B. A. y Heutink, P. 2002. *Science*. 299: 256-259.
- Braak, H. y Braak, E. 1982. Neuronal types in the striatum of man. *Cell Tissue Res.* 227: 319-342
- Brauth, S. E., Reiner, A., Kitt, C. A. y Karten, H. J. 1981. The substance P-containing striato-tegmental path in reptiles: An immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.* 219: 305-327.

- Burgess, J. W. Y Coss, R. G. 1983. Rapid effect of biologically relevant stimulation on tectal neurons : changes in dendritic spines morphology after nine minutes are retained for twenty-four hours. *Brain Res.* 266: 217-223
- Calabresi, P., Mercuri, N. B., Sancésario, G. y Bernardi, G. 1993. Electrophysiology of dopamine-denervated striatal neurons. Implications for Parkinson's disease. *Brain.* 116: 433-452
- Calabresi, P., Pisani, A., Centonze, D. y Bernardi, G. 1997. Synaptic plasticity and physiological interactions between dopamine and glutamate in the striatum. *Neurosci. Behav. Rev.* 21: 519-523
- Callier, S., Le Saux, M., Lhiaubet, A. M., Di Paolo, T., Rostène, W. y Pelaprat, D. 2002. Evaluation of the protective effect of oestradiol against toxicity induced by 6-hydroxydopamine and 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP+) towards dopaminergic mesencephalic neurones in primary culture. *Journal of Neurochemistry.* 80: 307-316
- Carlin, R. K. y Siekevitz, P. 1983. Plasticity in the central nervous system: Do synapses divide? *Proc. Natl. Acad. Sci.* 80:3517-803521
- Cepeda, C. y Levine, M. S. 1998. Dopamine and N-methyl-D-aspartate receptor interactions in the neostriatum. *Dev. Neurosci.* 20: 1-18
- 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.
- Christersson-Nylander, M., Herrera-Marschitz, M., Staines, W., Hökfelt, T., Terenius, L., Ungerstedt, U., Cuello, C., Oertel, W. H., y Goldstein, M. 1986. Striato-nigral dynorphin and substance P pathways in the rat. *Biochemical and Immunochemical studies. Exp. Brain Res.* 64: 169-192
- Clark, P. B. S. y Reuben, M. 1995. Inhibition by dizocilpine (MK-801) of striatal dopamine release induced by MPTP y MPP⁺: possible action at the dopamine transporter. *Br. J. Pharmacol.* 114: 315-322
- 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 Maestría en Neurociencias. ENEP-Iztacala. UNAM
- Colín-Barenque, L., Avila-Costa, M. R., Fortoul, T., Rugerio-Vargas, C., Machado-Salas, J. P., Espinosa-Villanueva, J. y Rivas-Arancibia, S. 1999. Morphologic alterations of olfactory bulb after acute ozone exposure in rats. *Neurosci. Lett.* 274: 1-4
- Collins, M. A., y Neafsey, E. J. 2002. Potential neurotoxic "agents provocateurs" in Parkinson's disease. *Neurotoxicology and Teratology.* 24: 571-577.
- Colpaert, F. C. 1987. Pharmacological characteristics of tremor, rigidity and hypokinesia induced by reserpine in rat. *Neuropharmacology.* 26(9):1431-1440.
- Coté, L. Y Crutcher, M. D. 1991. Motor functions of the basal ganglia and disease of transmitter metabolism. En, Kandel, E. R., Schwartz, J. H. Y Jessell, T. M. (Eds.) *Principles of neural science.* Elsevier. USA.
- Coyle, J. y Puttfarcken, P. 1993. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science.* 262: 689-695

- Creese, Y., Burt, D. R., Synder, S. H. 1977. Dopamine receptor binding enhancement accompanies lesion-induced behavioral supersensitivity. *Science*. 197: 596-598
- Dauer, W., Przedborski, S. 2003. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. *Neuron*. 39: 889-909.
- DeLong, M. R. 1974. Motor Functions of the Basal Ganglia. En: Brookhart, J. M., Mouncastle, V. B., Brooks, V. B., Y Geiger, S. R. (Eds). *Handbook of Physiology. Sect. 1. The Nervous System. Vol. 2. Motor Control. Part 2.* American Physiology Society, Bethesda, M. A. 1017-1061
- DeLong, M. R. Y Georgopoulos, A. P. 1981. Motor Functions of the basal ganglia. En, Brookhard, J., Mouncastle, 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) 7: 281-285
- DeLong, M. R. 2001. Los Ganglios Basales. En. Kandel, E. R., Schwartz, J. H., y Jessell, T. M. (Eds.). *Principios de Neurociencia. 4ª. Edición.* McGraw-Hill. Interamericana. Cap. 43:853-867
- Descarries, L., Bosler, O., Berthelet, F. y Des Rosiers, M. H. 1980. Dopaminergic nerve ending visualized by high resolution autoradiography in adult rat neostriatum. *Nature*. 284: 620-622
- Deumens, R., Blokland, A., y Prickerts, J. 2002. Modeling Parkinson's disease in rats: An evaluation of 6-OHDA lesion of the nigrostriatal pathway. *Experimental Neurology*. 175: 303-317
- Dhandapani, K. M., Brann, D. W. Estrogen-Astrocyte interactions : Implications for neuroprotection. *BMC Neuroscience*. 3: 1-4
- Diamond, S. G., Markham, C. H., Hoehn, M. M. McDowell, F. H. y Muentner, M. D. 1990. An examination of male-female differences in progression and mortality of Parkinson's disease. *Neurology*. 40: 763-766
- DiFiglia, M., Pasik, T. Y Pasik, P. 1976. A Golgi study of neural types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res*. 114: 245-256
- DiFiglia, M., Pasik, T. Y Pasik, P. 1980. Ultrastructure of Golgi-impregnated and Gold-toned spiny ans aspiny neurons in the monkey neostriatum. *J. Neurocytol*. 9: 471-492
- DiFiglia, M., Aronin, N. Y. Y Martin, J. B. 1982. Light and electron microscopic lozalization of immunoreactive Leu-enkephalion in the monkey basal ganglia. *Neuroscience*. 2(3): 303-320
- DiMova, R., Vuillet, J. Y Seite, R. 1980. Study of the rat neostriatum using a combined golgi-electron microscope technique and serial sections. *Neurosci*. 5: 1581-1596.
- Disshon, K. A., Boja, J. W. y Dluzen, D. E. 1998. Inhibition of striatal dopamine transporter activity by 17 β -estradiol. *European Journal of Pharmacology*. 345: 207-211.
- Dluzen, D. E. 1996. The effects of testosterone upon MPTP-induced neurotoxicity of the nigrostriatal dopaminergic system in male C57/B1 mice. *Brain Research*. 715: 113-118
- Dluzen, D. E. 1997. Estrogen decrease corpus striatal neurotoxicity in response to 6-Hydroxydopamine. *Brain Research*, 767: 340-344

- Dodson, R. E., Shryne, J. E., Gorski, R. A. 1988. Hormonal modification of the number of total and late-arising neurons in culture: sex differences and estrogen effects. *J. Neurosci. Res.* 33: 266-281
- Dravid, A., Jaton, A. L., Enz, A. y Frei, P. 1984. Spontaneous recovery from motor asymmetry in adult rats with 6-hydroxidopamine-induced partial lesions of the substantia nigra. *Brain Res.* 311: 361-365
- Duvoisin, R. C. 1976. Parkinsonism: Animal analogues of human disorder. En: Yhar, M. D. (Ed) Raven Press, N. Y. pag. 293-302
- Dykens, J. A. 1999. Free radicals and mitochondria dysfunction in excitotoxicity and neurodegenerative disease. En: Koliastos, E. V. Y Ratan, R. R. (Eds) Cell death and disease of the nervous system. Humana Press. NJ: 45-69
- Engert, F. Y Bonhoeffer, T. 1999. Dendritic spines changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* 399: 66-70
- Facchinetti F., Dawson V. L., Dawson T. M. 1998. Free Radicals as Mediators of Neuronal Injury. *Cellular and Molecular Neurobiology.* 18 (6): 667-678.
- Fahn, S y Cohen, G. 1992. The oxidant estress hypothesis in Parkinson´s disease. *Annals of Neurology.* 32 (6): 804-812
- Fass, B. Y Butcher, L. L. 1981. Evidence for a crossed nigrostriatal pathway in rats. *Neurosci. Lett.* 22: 109-113
- Fearnly, J. M. y Lees, A. J. 1991. Ageing and Parkinson´s disease: suibstantia nigra regional selectivity. *Brain.* 114: 2283-2301.
- Ferraz, A. C., Leal, X. L., Hernandez, S., Sulzbach, M., Viola, G. G., Anselmo-Franci, J. A., Achaval, M. y Da Cunha, C. 2003. Failure of estrogen to protect the substancia nigra pars compacta of female rats from lesion induced by 6-hydroxydopamine. 986: 200-205
- Fiala, J. C., Spacek, J. y Harris, K. M. 2002. Dendritic spine pathology: Cause or Consequence of neurological disorders?. *Brain Research Reviews.* 39(1): 29-54
- Finotti N., Castagna L., Moretti A., Marzatico F. 2000. Reduction of lipid peroxidation in different rat brain areas after cabergoline treatment. *Pharmacological Research.* 42(4): 287-291.
- Forno, L. S. 1982. Movement disorders. Butterworth Scientific, London. pag 25. En: García Hernandez, F y Massieu Trigo, L. 1993. Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: Avances teóricos y experimentales. *Ciencia.* 44: 455-472
- Forno, L. S., Norville, R. L. 1979. Ultrastructure of the neostriatum in Huntington´s and Parkinson´s disease. *Adv. Neurol.* 23: 123-135
- Fox, C. A., Andrade, A. N., Scchwyn, R. C. y Rafols, S. J. A. 1971. The aspiny neurons and the glia in the primate striatum : A golgy and electron microscopic study. *J. Hirnforsch.* 13: 341-362
- Fox, C. A., Rafols, J. A. y Cowan, W. M. 1975. Computers measurements of axis cylinder diameters of radialfibers ans "comb" bundle fibers. *Comp. Neurol.* 159: 201-224

- Friedman A., y Galazka-Friedman J. 2001. The Current State of Free Radicals in Parkinson's Disease. Nigral Iron as a Trigger of Oxidative Stress. *Parkinson's Disease: Advances in Neurology*. 86: 137-142.
- García-Hernández, F. y Massieu-Trigo, L. 1993. Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: Avances teóricos y experimentales. *Ciencia*. 44: 455-472.
- García-Segura, L. M., Olmos, G., Robbins, R. J., Hernandez, P., Meyer, J. H. y Naftolin, F. 1989. Estradiol induces rapid remodeling of plasma membranes in developing rat cerebrocortical neurons in culture. *Brain Res*. 498: 339-343
- García-Segura, L. M., Azcoitia, I., Don Carlos, L. L. 2001. Neuroprotection by estradiol. *Prog. Neurobiol*. 63: 29-60.
- Gazzaley, A., Kay, S. Y Benson, D. L. 2002. Dendritic Spine Plasticity in Hippocampus. 111 (4): 853-862
- Gee, P. y Davison, A. J. 1989. Intermediates in the aerobic autoxidation of 6-hydroxydopamine: relative importance under different reaction conditions. *Free Radic. Biol. Med*. 6: 271-284
- Geinisman, Y, Morrell, F. y Toledo-Morrell, L. 1992. Increase in the number of axospinous synapses with segmented postsynaptic densities following hippocampal kindling. *Brain Res*. 669: 341-347
- Gerfen, C. R. y Young, W. S. 1988. Distribution of striatonigral and striatopallidal peptidergic neurons in both patch and matrix compartments: An in situ hybridization histochemistry and fluorescent retrograde tracing study. *Brain Res*. 460: 161-167.
- Gerfen, C. R., Engber, T. M., Mahan, I. C., Susel, Z., Chase, T. N., Monsma, F. J. y Sibley, D. Y. 1990. D1 y D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science*. 250: 1429-1431.
- Gerfen, C. R. 1992. D1 y D2 dopamine receptor regulation of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science*. 250: 1429-1431.
- Gerlach, M y Riederer, P. F. 1999a. Time sequences of dopaminergic cell death in Parkinson's disease: Indications for neuroprotective studies. *Advances in Neurology*. 80: 219-225
- Gerlach, M., Blum-Degen, B., Riederer, P. 1999b. Nitric Oxide in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Parkinson's Disease. Advances in Neurology*. 80: 239-245
- Glinka, Y. Y. y Youdim, M. B. H. 1995. Inhibition of mitochondrial complexes I and IV by 6-hydroxydopamine neurotoxicity. *Eur. J. Pharmacol*. 292:329-332
- Glinka, Y., Tipton, K. F., y Youdim, M. B. H. 1996. Nature of inhibition of mitochondrial respiratory complex I by 6-hydroxydopamine. *J. Neurochem*. 66:2004-2010
- Glinka, Y., Gassen, M. y Youdim, M. B. H. 1997. Mechanism of 6-hydroxydopamine neurotoxicity. *J. Neural. Transm*. 50: 55-66
- Glinka, Y., Tipton, K. F., Youdim M. B. H. 1998. Mechanism of inhibition of mitochondrial respiratory complex I by 6-hydroxydopamine and its prevention by desferrioxamine. *Eur. J. Pharmacol*. 351: 121-129

- Goldin, M., Segal, M. y Avignone, E. 2001. Functional Plasticity Triggers Formation and Pruning of Dendritic Spines in Cultured Hippocampal Networks. *The Journal of Neuroscience*. 21 (1): 186-193
- Goldman, S. M. Y Tanner, C. Etiology of Parkinson's disease. En *Parkinson's Disease and Movement Disorder*. Edit. Jankovic, J. Tolosa, E. Baltimore: Williams and Wilkins. 1998: 1333-1358
- González-Burgos, I., López-Vázquez, M. A. y Beas-Zárate, C. 2004. Density, but not shape, of hippocampal dendritic spines varies after a seizure-inducing acute dose of monosodium glutamate in rats. *Neuroscience Letters*. 363:22-24
- González-Torres M. C., Betancourt-Rule M. y Ortiz-Muñiz R. 2000. Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica*. 25 (1): 3-9.
- Gorski, R. A. 1988. Structural sex differences in the brain: their origin and significance. En: Lakosky, J. M., Pérez-Polo, J. R., Rassin, D. K., Gustavson, C. R. y Watson, C. S. (Eds) *Neural control of reproductive function*. Liss. NY: 33-44
- Gould, E., Wolley, C. S., Frankfurt, M. y McEwen, B. S. 1990. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells. *J. Neurosci*. 10: 1286-1291
- Götz M. E., Knig G., Riederer P., Youdim M. B. H. 1994. Oxidative stress: free radical production in neural degeneration. *Pharmac Ther* 63: 37-122.
- Graveland, G. A., Williams, R. S. and DiFiglia, M. 1985. A golgi study of the human neostriatum: neurons and afferents fibers. *Journal of comparative neurology*. 234: 317-333
- Granbois, M., Tanguay, B. y Di Paolo, T. 1999. Estradiol and dehydroepiandrosterone but not dihidrotestosterona protect against MPTP-induced dopamine depletion in mice. *Society for Neuroscience Abstract*. 25: 1595.
- Granbois, M., Morissette, M., Callier, S. Y Di Paolo, T. 2000. Ovarian steroids and raloxifene prevent MPTP-induced dopamine depletion in mice. *NeuroReport*. 11(2): 343-346
- Graham, D. G., Tiffany, S. M., Bell, W. R. Jr. y Gutknecht, W. F. 1978. Autoxidation versus covalent binding of quinines as the mechanism of toxicity of dopamine, 6-hydroxidopamine, and related compounds toward C1300 neuroblastoma cells *in vitro*. *Mol. Pharmacol*. 14:644-653
- Graybiel, A. M. 1990. The basal ganglia and the initiation of movement. *Rev. Neurol*. 146 (10):570-574.
- Grenhoff, J. Y Johnson, S. W. 1997. Electrophysiological effects of dopamine receptor stimulation. En: Neve, K. A., Neve, R. L. (Eds.). *The dopamine receptors*. Humana Press. Totowa, NJ: 267-304
- Griffin, M., Lee, H-W., Zhao, L. y Eghbali-Webb, M. 2000. Gender-related differences in proliferative response of cardiac fibroblast to hypoxia: Effects of estrogen. 215: 21-30
- Groves, P. M. 1980. Synaptic endings and their postsynaptic targets in neostriatum: synaptic specializations revealed from analysis of serial sections. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 77 (11): 6926-6929
- Gutiérrez-Valdez, A. 2004. Efecto de la L-DOPA en el estriado y sustancia nigra de rata lesionada con 6-OHDA: modelo animal de la enfermedad de Parkinson. Tesis de Licenciatura. FESI. UNAM. México.

- Harris, K. M. y Kater, S. B. 1994. Dendritic spines: cellular specializations imparting both stability and flexibility to synaptic function. *Annu. Rev. Neurosci.* 17: 341-371
- Harris, K. M. 1999. Structure, development, and plasticity of dendritic spines. *Curr. Opin. in Neurobiol.* 9: 343-348
- Hattori, T. y Fibiger, H. C. 1982. On the use of lesions of afferents to localize neurotransmitter receptor sites in the striatum. *Brain Res.* 238: 245-250
- 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
- Heikkila, R. E., Youngster, S. K., Manzino, L., Cabbat, F. S. y Duvoisin, R. C. 1985. Effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine and related compounds on the take of $\{^3\text{H}\}$ 3,4-dihydroxyphenylethylamine and $\{^3\text{H}\}$ 5-hydroxytryptamine in neostriatal synaptosomal preparations. *J. Neurochem.* 44: 310-313
- Hering, H. y Sheng, M. 2001. Dendritic spines: Structure, Dynamics and Regulation. *Nature Reviews. Neuroscience.* 2: 880-888
- Hermida-Ameijeiras A., Méndez-Álvarez E., Sánchez-Iglesias S., Sanmartín-Suárez Carolina., Soto-Otero Ramón. 2004. *Neurochemistry Internacional.* 1-14
- Hewitt, S. C. y Korach, K. 2002. Estrogen receptors: Structure, mechanisms and function. 3: 193-200
- Hökfelt, T. y Ungersted, U. 1969. Electron and fluorescence microscopical studies on the nucleus caudatus putamen of the rat after unilateral lesions of ascending nigrostriatal dopamine neurons. *Acta Physiol. Scand.* 76: 415-426
- Hong, J. S., Yang, H. Y., Racagni, G. Y Costa, E. 1977. Projections of the substance P containing neurons from neostriatum to substantia nigra. *Brain Res.* 122 (3): 541-544.
- Hoover, J. E. y Strick, P. L. 1993. Multiple output channels in the basal ganglia. *Science.* 259:819-821
- Hornykiewickz, O. 1966. Dopamine (3-hydroxytyramine) and brain function. *Pharmacol. Rev.* 18: 925-964
- Horwitz, B. 1981. Neuronal plasticity of the dendritic spine. *Prog. Neurobiol.* 41: 281-321.
- Hosokawa, T., Rusakov, D. A., Bliss, T. V. P. y Fine, A. 1995. Repeated confocal imaging of individual dendritic spines in the living hippocampal slice: evidence for changes in length and orientation associated with chemically induced LTP. *J. Neurosci.* 15(8): 5560-5573
- Hudson, J. L., van Horne, C. G., Strömberg, I., Brock, S., Clayton, J., Masserano, J., Hoffer, B. J. Y Gerhardt, G. A. 1993. Correlation of apomorphine- and amphetamine-induced turning with nigrostriatal dopamine content in unilateral 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Brain Res.* 626: 167-174
- Ichitani, Y., Okamura, H., Nakahara, D., Nagatsu, Y. y Ibata, Y. 1994. Biochemical and immunocytochemical changes induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine injection in the rat nigrostriatal dopamine neuron system: evidence for cell death in the substantia nigra. *Exp. Neurol.* 130: 269-278
- Ingham, C. A. Hood, C. H. y Arbuthnott, G. W. 1989. Spine density on neostriatal neurons change with 6-hydroxydopamine lesions and with age. *Brain Res.* 503: 334-338

- Ingham, C. A., Hood, S. H. y Arbuthnott, G. W. 1991. A light and electron microscopical study of enkephalin-immunoreactive structures in the neostriatum after removal of the nigrostriatal dopaminergic pathway. *Neurosci.* 42 (3): 715-730
- Ingham, C. A., Hood, S. H., VanMaldegen, B., Weenink, A. y Arbuthnott, G. W. 1993. Morphological changes in the rat neostriatum after unilateral 6-hydroxidopamine injections into the nigrostriatal pathway. *Exp. Brain Res.* 93: 12-27
- Itarat, W. y Jones, D. G. 1992. Perforated synapses are present during synaptogenesis in rat neocortex. *Synapse.* 11: 279-286
- Ivanova, T., Karolczak, M. y Beyer, C. 2001. Estrogen stimulates the mitogen-activated protein kinase pathway in midbrain astroglia. *Brain Res.* 889: 264-269
- Jaber, M., Dumartin, B., Saund, C., Harwook, J. K., Reubert, C., Giros, B., Bloch, B. y Caron, M. G. 1999. Differential regulation of tyrosine hydroxylase in the basal ganglia of mice lacking the dopamine transporter. *Eur. J. Neurosci.* 11: 3488-3511
- Jedrzejewska, A., Wierzbica-Bobrowicz, T., Olejniczak, P., Poszwinska, Z. y Dymecki, J. 1990. Ultrastructure and immunocytochemistry of left and right nigrostriatal system after lesion of right side of substantia nigra of rat. *Adv. Neurol.* 53: 41-49
- Jenner, P. G. 1992. Oxidative stress as a cause of Parkinson disease. En: Hunter, A. J. y Clark M. (Eds). *Neurodegeneration.* Cap. I Academic Press
- Jeon, B. S., Jackson-Lewis, V. y Burke, R. E. 1995. 6-hydroxidopamine lesion of the rat substantia nigra: time course and morphology of cell death. *Neurodegeneration.* 4: 131-137.
- Jiménez-Jimenez, F. J., Piles-Galdón, S., Muñoz-Farjas, E., Aguilar-Barberá, M. 2000. Síndromes parkinsonianos. *Arch. Neurocién (Mex)* 5(2): 84-95.
- Joel, D. y Wiener, I. 1994. The Organization of the Basal Ganglio-Thalamocortical circuits: Open Intercnnected rather than closed segregated. *Neuroscience.* 63(2): 363-379
- Jonsson, G. y Sachs, C. 1970. Effects of 6-hydroxidopamine on the uptake and stage of noradrenalina in sympathetic adrenergic neurons. *Eur. J. Pharmacol.* 9: 141-155
- Joyce, N. J. 1991. Differential response of striatal dopamine and muscarinic cholinergic receptor subtypes to the loss of dopamine I. Effects of intranigral or intracerebroventricular 6-hydroxidopamine lesions of the mesostriatal dopamine system. *Exp. Neur.* 113: 261-276
- Joyce, N. J. 1993. Differential response of striatal dopamine and muscarinic cholinergic receptor subtypes to the los of dopamine III. Results in Parkinson´s Disease cases. *Brain Research.* 600: 156-160.
- Jueptner, M. Y Weiller, C. 1998. A review of differences between basal ganglia and cerebellar control of movements as revealed by functional imaging studies. *Brain* 121: 1437-1449.
- Kaakkola S. y Teräväinen H. 1990. Animal models of Parkinsonism. *Pharmac. Toxic.* 67, 95-100.
- Kasai, H., Matsuzaki, M., Noguchi, J., Yasumatsu, N. y Ankara, H. 2003. Structure-stanility-function relationships of dendritic spines. *TRENDS in Neuroscience.* 26(7): 360-368.
- Kawaguchi, Y., Wilson, C. J., Augood, S. J. Y Emson, P. C. 1995. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *TINS* 18(12): 527-535
- Kawata, M. 1995. Roles of steroid hormones and their receptors in structural organization in the nervous system. *Neurosci Res.* 24(1):1-46.

- Kemp, J. M. y Powell, T. P. S. 1971. The structure of the caudate nucleus of the cat. Light and electron microscopy. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. Ser. B.* 262: 383-401
- Kita, H. y Kitai, S. T. 1988. Glutamate decarboxylase immunoreactive neurons in rat neostriatum: their morphological types and populations. *Brain Res.* 447: 346-352
- Kiyatkin, E. A. y Rebec, G. V. 1999. Striatal neuronal activity and responsiveness to dopamine and glutamate alter selective blockade of D1 and D2 dopamine receptors in freely moving rats. *J. Neurosci.* 19: 3594-3609
- Kolesnikova, E. É. Y Serebrovskaya, T.V. 2003. Parkinson's Disease: Mechanisms of Neuronal Death. *Neurophysiology.* Vol. 35. No. 1: 54-66
- Kurtzke, J. F. y Golberg, I. D. 1988. Parkinsonism death rates by race, sex and geography. *Neurology.* 38: 1558-1561
- Kucukkaya, M., Haklar, G. y Yalcin, A. S. 1996. NMDA excitotoxicity and free radical generation in rat brain homogenates: application of chemiluminescence assay. *Neurochem. Res.* 21 (12): 1535-1538
- Küppers, E., Ivanova, T., Karolczak, M. y Beyer, C. 2000. Estrogen: A multifunctional Messenger to nigrostriatal dopaminergic neurons. *Journal of Neurocytology.* 29: 375-385.
- Le, W., y Appel, S. H. 2004. Mutant genes responsables for Parkinson's disease. *Current Opinion in Pharmacology.* 4: 79-84.
- Leist, M. y Nicotera, P. 1999. Calcium and cell death. En: Koliastos, E. V. Y Ratan, R. R. (Eds) *Cell death and disease of the nervous system.* Humana Press. NJ: 69-91
- LeMoine, C., Normand, E., Guitteny, A. F., Fouque, B., Teoule, R. y Bloch, B. 1990. Dopamine receptor gene expression by enkephalin neurons in rat forebrain. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 87 : 230-234.
- LeMoine, C., Normand, E. Y Bloch, B. 1991. Phenotypical characterization of the rat striatal neurons expressing the D1 dopamine receptor gene. *Proc. Nat. Sci. USA.* 88: 4205-4209
- Lewy, F. H. 1912. *Hanbuch der Neurologie.* Springer, Berlín pag. 920. En: García Hernandez, F y Massieu Trigo, L. 1993. *Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: Avances teóricos y experimentales.* Ciencia. 44: 455-472
- Ljungdahl, A., Hökfelt, T., Jonsson, G. y Sachs, C. 1971. Autoradiographic demonstration of uptake and accumulation of 3H-6-hydroxidopamine in adrenergic nerves. *Experientia.* 27: 297-299
- Loughlin, S. E. y Fallon, J. H. 1982. Mesostriatal projections from ventral tementum and dorsal raphe: Cells Project ipsilaterally or contralaterally but not bilaterally. *Neurosci. Lett.* 32: 11-16
- Luquín, M. R. 2000. Modelos experimentales de EP. *Rev. Neurol.* 31(1): 60-66
- Machado-Salas, J. Ibarra, O., Martínez-Fong, D., Cornejo, A., Acevez, J. y Kuri, J. 1990. Degenerative ultrastructural changes observed in the neuropil of the caudate nuclei from Parkinson's disease patients. *Stereotact. Func. Neurosurg.* 54: 297-305
- Lustig, R. H. 1994. Sex hormone modulation of neural development in vitro. *Horm. Behav.* 28: 383-395

- Machado-Salas, J., Ibarra, O., Martínez-Fong, D., Cornejo, A., Aceves, J. y Kuri, J. 1990. Degenerative ultrastructural changes observed in the neuropil of the caudate nuclei from Parkinson's disease patients. *Stereotact. Func. Neurosurg.* 54 + 55: 297-305
- Maher, N. E., Golbe, L. I., Lazzarini, A. M., Mark, M. H., Currie, L. J., Wooten, G. F., Saint-Hilaire, M., Wilk, J. B., Volcjak, J., Maher, J. E., Feldman, R. G., Guttman, M., Lew, M., Schuman, S., Suchowersky, O., Lafontaine, A. L., Labelle, N., Vierege, P., Pramstaller, P. P., Klein, C., Hubble, J., Reider, C., Growdon, J., Watts, R., Montgomery, E., Baker, K., Singer, C., Stacey, M. y Myers, R. H. 2002. Epidemiologic study of 203 sibling pairs with Parkinson's disease. *Neurology.* 58: 79-84
- Mano, H., Hakeda, Y. y Kumegawa, M. 2001. Estrogen directly down-regulates the bone-resorbing activity of mature through nuclear estrogen receptor α . *Cytotechnology.* 35: 17-23
- Matsumoto, A. y Arai, Y. 1976. Effect of estrogen on early postnatal development of synaptic formation in the hypothalamic arcuate nucleus of female rats. *Neurosci. Lett.* 2: 79-82
- McDermott, J. L., Liu, B. y Dluzen, D. E. 1994a. Sex differences and effects of estrogen on dopamine and DOPAV release from striatum of male and female CD-1 mice. *Experimental neurology.* 125:306-311
- McDermott, J. L., Kreutzberg, J. D., Liu, B. y Dluzen, D. E. 1994b. Effects of estrogen treatment on sensorimotor task performance and brain dopamine concentrations in gonadectomized male and female CD-1 mice. *Hormones and Behavior.* 28: 16-28
- McEwen, B. S. y Alves, S. E. 1999. Estrogen actions in the central nervous system. *Endocrine Reviews.* 20: 279-307
- McEwen, B. S., Akama, K., Alves, S., Brake, W. G., Bulloch, K., Lee, S., Li, C., Yuen, G. Y Miller, T. A. 2001. Tracking the estrogen receptor in neurons: Implications for estrogen-induced synapse formation. *PNAS.* 98 (13): 7093-7100
- McNeill, T. H., Brown, S. A., Rafols, J. A. y Shoulson, I. 1988. Atrophy of medium spiny striatal dendrites in advanced Parkinson's disease. *Brain Research.* 445: 148-152.
- McGeer, P. L. Y McGeer, E. G. 1993. Neurotransmitters and their receptors in the basal ganglia. En: Narabayashi, H., Nagatsu, T., Yanagisawa, N. Y Mizuno, Y. (Eds.) *Advances in Neurology.* Vol. 60. Raven Press, N. Y.
- Meshul, C. K., Emre, N., Nakamura, C. M., Allen, C., Donohue, M. K. y Buckman, J. F. 1999. Time-dependent changes in striatal glutamate synapses following a 6-hydroxydopamine lesion. *Neuroscience.* 88 (1): 1-16
- Miller, R. y Beninger, R. J. 1991. On the interpretation of asymmetries of posture and locomotion produced with dopamine agonists in animals with unilateral depletion of striatal dopamine. *Progress in Neurobiology.* 36: 229-256
- Missale, C., Nash, R. S., Robinson, W. S., Jaber, M. Y Caron G. M. 1998. Dopamine receptors: From structure to function. *Physiological Reviews* 78(1): 189-225.
- Mitsumoto, A., y Nakagawa, Y. 2001. DJ-1 is an indicator for endogenous reactive oxygen species elicited by endotoxin. *Free Radic. Res.* 35: 885-893.
- Mong, J. A. y McCarthy, M. M. 1999. Steroid-induced developmental plasticity in hypothalamic astrocytes: implications for synaptic patterning. *J. Neurobiol.* 40: 602-619

- Moosmann, B. Y Behl, C. 1999. The antioxidant neuroprotective effects of estrogens and phenolic compounds are independent from their estrogenic properties. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96: 8867-8872
- Morrison, A. B. y Webster, R. A. 1973. Drug-induced experimental parkinsonism. *Neuropharmacology.* 12: 715-724
- Moser, M. B., Trommald, M. Y Andersen, P. 1994. An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggest the formation of new synapses. *Proc. Natl. Acad. Of Sci.* 91: 12673-12675
- Mouradian, M. M. 2002. Recent advances in the genetics and pathogenesis of Parkinson disease. *Neurology.* 58: 179-184.
- Murray, H. E., Pillai, A. V., McArthur, S. R., Dexter, D. T. y Gillies, G. E. 2003. Dose-and sex-dependent effects of the neurotoxin 6-hydroxidopamine on the nigrostriatal dopaminergic pathway of adult rats: differential actions of estrogen in males and females. 116:213-222
- Müller, W. y ConnorR, J. A. 1991. Dendritic spines as individual neuronal compartments for dendritic spines and altered excitability anfer chronic epilepsy in hippocampal slice cultures. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 90: 257-261.
- Nakanishi, H. y Kita, S. T. 1987. Intracellular study of rat substancia nigra pars reticulate neurons in an vivo slice preparation: Electrical membrane properties and response characteristic to subthalamicstimulation. *Brain Res.* 437: 45-55.
- Nieto-Sampedro, M., Hoff, S. F. y Cotman, C. W. 1982. Perforated postsynaptic densities: probable intermediates in synapse turnover. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79: 5718-5722
- Olanow, C. W. 1993. A radical hypothesis for neurodegeneration. *TINS.* 16 (11): 439-444
- Otero-Siliceo, E., Abascal-Arias, M. R., Alanis-Quiroga, M., et al. 1996. Parkinson: enfoque al futuro. Fondo de Cultura Económica. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Cap: I, III, XII, XIII, XV, XVI, XVII y XVIII.
- Ordoñez-Librado, J. L. 2004. Comparación del efecto de la taurina y la bromocriptina en la ultraestructura del núcleo caudado de rata después de la lesión unilateral con 6-hidroxidopamina (6-OHDA). Tesis de Licenciatura. FESI. UNAM. México
- Oyama, Y., Okasaki, E., Chikahisa, L., Nagano, T. y Sadakata, C. 1996. Oxidative stress-induced increase in intracellular Ca^{2+} and Ca^{2+} -induced increase in oxidative stress: An experimental model using dissociated rat brain neurons. *Jpn. J. Pharmacol.* 72: 381-385
- Paisán-Ruíz, C., Sáenz, A., López de Munain, A., Martí, I., Martínez Gil, A., Martí-Fasso, J. F. y Pérez-Tur, J. 2005. Familial Parkinson´s Disease: Clinical and Genetic Análisis of Tour BAsque Familias. *Ann. Neurol.* 57: 365-372
- Parent, A. 1990. Extrinsic connections of the basal ganglia. *TINS.* 13 (7): 254-258.
- Parent, A. Y Hazrati, L. N. 1993. Anatomical aspects of information processing in primate basal ganglia. *TINS.* 16 (3): 111-116.
- Parkinson, J. 1817. An essay on the shaking palsy. En: Strange, P. G. 1992. *Brain Biochemistry and Brain Disorders.* Oxford University Press. Cap 10.

- Pickel, V. M., Jhonson, E., Carson, M. y Chan, J. 1992. Ultrastructure of spared dopamine terminals in caudate-putamen nuclei of adult rats neonatally treated with intranigral 6-hydroxidopamine. *Dev. Brain Res.* 70: 75-86
- Pilgrim, C. y Hutchison, J. B. 1994. Developmental regulation of sex differences in the brain: can the role of gonadal steroids be redefined? *Neuroscience.* 60: 843-855
- Price, D. L., Whitehouse, P. J. y Struble, R. G. 1986. Cellular pathology in Alzheimer's and Parkinson's disease. *TINS* 9 (1): 19-33
- Przedborski, S., Levivier, M., Jiang, H., Ferreira, M., Jackson-Lewis, V., Donaldson, D y Togasaki, D. M. 1995. Dose-dependent lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced by intrastratial injection of 6-Hidroxydopamine. *Neuroscience.* 67 (3): 631-647.
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., LaMantia, A. S. y McNamara, J. O. 2001. Invitación a la neurociencia. Modulación del movimiento por los ganglios basales y el cerebelo. (Edits. Medica Panamericana)
- 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. pag: 411-420
- Radja, F., El Masnari, M., Soghomonian, J. J., Dejar, K. M., Ferron, A., Reader, T. A. y Descarries, L. 1993. Changes of D₁ and D₂ receptors in adult rat neostriatum alter neonatal dopamine denervation: Quantitative data from ligand binding, in situ hybridation and iontophoresis. *Neurosci.* 57(3): 635-548
- Rafal, R. D., Posner, M. I., Walker, J. A. y Friedrich, F. J. 1883. En: García Hernandez, F y Massieu Trigo, L. 1993. Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: Avances teóricos y experimentales. *Ciencia.* 44: 455-472
- Reiner, A. y Anderson, K. D. 1990. The patterns of neurotransmitter and neuropeptide co-occurrence among striatal projection neurons-. Conclusions based on recent findings. *Brain Res. Rev.* 15: 251-265
- Reisert, I., Han, V., Lieth, E., Toran-Allerand, C. D., Pilgrim, C., Lauder, J. 1987. Sex steroids promote neurite outgrowth in mesencephalic tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons in vitro. *Int. J. Dev. Neurosci.* 5: 91-98
- Ricaurte, G. A., Langston, J. W., Delaney, L. E., Irwin, I. y Brooks, J. D. 1985. Dopamine uptakes blockers against the dopamine depletion effects of 1-methy-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the mouse striatum. *Neurosci. Lett.* 59: 259-264
- Riederer, P., Reichmann, H., Janetzky, B., Sian, J., Lesch, K. P., Lange, K. W., Double, K. L., Nagatsu, T. y Gerlach, M. 2001. Neural degeneration in Parkinson's disease. *Advances in Neurology.* 86. 125-136
- Rose, S., MacKenzie, G. M., y Jenner, P. Nitric Oxide and Basal Ganglia Degeneration. Parkinson's disease. *Advances in Neurology.* 80: 247-257
- Sánchez-Rodríguez, J. L. 2002. Déficit neuropsicológicos en la EP. Relación con variables clínicas. *Rev. Neurol.* 35 (4): 310-317
- Sawada, H., Ibi, M., Kihara, T., Urushitani, M., Akaike, A. y Shimohama, S. 1998. Estradiol protects mesencephalic dopaminergic neurons from oxidative stress-induced neuronal death. *Journal of Neuroscience Research.* 54: 707-719

- Scatton, B., Rouquier, L., Javoy-Agid, F. y Agid, Y. 1982. Dopamine deficiency in the cerebral cortex in Parkinson disease. *Neurology*. 32: 1039-1040
- Schapira, A. H. V., Cooper, J. M., Dexter, D., Jenner, P., Clark, J. B., Marsden, C. D. 1989. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet* 1: 1269.
- Schapira, A. H. V. 1999. Mitochondrial DNA in Parkinson's disease. *Advances in Neurology* 80: 233-237
- Schapira, A. H. V. 2001. Causes of neural death in Parkinson's disease. *Advances in Neurology*. 86: 155-162
- Schmidt, M. J. 1980. The pharmacology of Parkinson's disease. En: *Neuropharmacology of Central Nervous System and Behavioral Disorders*. Palmer Gene C. Academic Press Inc. N.Y. 1a edición. Pags: 149-171
- Schneider, J. S. 1987. Functions of the basal ganglio: An overview. En: Lidsky, T. I. (Ed.) *Basal ganglio and behavior. Sensory aspects of motor functioning*. Hans Huber, Publishers. NY.
- Schwartz, R. K. W. y Huston, J. P. 1996. Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of mesostriatal dopamine neurons and their physiological sequelae. *Prog. Neurobiol* 49: 215-266
- Schwartz, J., Giros, B., Martres, M. y Sokoloff, P. 1992. The dopamine receptor family: Molecular Biology and Pharmacology. *Seminar in Neuroscience*. 4 (2): 99-108
- Seeman, P. y Niznik. 1990. Dopamine receptors and transporters in Parkinson's disease and schizophrenia: *FASEJB*. 4: 2737-2744
- Segal, M. 1995a. Imaging of calcium inside dendrites and spines: goals, issues and perspectives. *J. Neurosci. Meth*. 59: 25-29.
- Segal, M. 1995b. Dendritic spines for neuroprotection: a hypothesis. *TINS*. 18 (11): 468-474
- Segal, M., Korkotian, E. y Murphy, D. D. 2000. Dendritic spine formation and pruning: common cellular mechanisms?. *TINS*. 23(2): 53-57
- Segal, M. y Murphy, D. 2001. Estradiol Induces Formation of Dendritic Spines in Hippocampal Neurons: Functional Correlatos. *Hormones and Behavior*. 40: 156-159.
- Segev, I. y Rall, W. 1998. Excitable dendrites and spines: earlier theoretical insights elucidate recent direct observations. *TINS*. 21 (11): 453-460
- Segura T., Galindo, M. F, Rallo-Gutiérrez B., Ceña V., Jordán J. 2003. Dianas farmacológicas en las enfermedades neurodegenerativas. Revisión en neurociencias; editor J. V: Sánchez-Andrés. *Rev Neurol* 36(11):1047-1057
- Shastri, B. S. 2001. Parkinson disease: etiology, pathogenesis and future of gene therapy. *Neuroscience Research*. 41: 5-12
- Sheperd, G. M. 1990. *The synaptic organization of the brain* (3th ed.). Oxford Univ. Press. N. Y.
- Sheperd, G. M. 1996. The dendritic spine: A multifunctional integrative unit. *J. Neurophysiol*. 75(6): 2197-2210.
- Sheperd, G. M: 1998. *The synaptic organization of the brain* (4th ed.). Oxford Univ. Press. N. Y.
- Shy, H., Malaiyandi, L. y Timiras, P. S. 2000. Protective action of 17b-estradiol and tamoxifen on glutamate toxicity in glial cells. *Int. J. Devl. Neuroscience*. 18: 289-297

- Sibug, R., Küppers, E., Beyer, C., Maxson, S. C., Pilgrim, C. y Reiser, I. 1996. Genotype-dependent sex differentiation of dopaminergic neurons in primary cultures of embryonic mouse brain. *Developmental Brain Research*. 93: 136-142
- Smith, A. D. y Bolam, J. P. 1990. The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurons. *TINS*. 13 (7): 259-265
- Smith, J. A. M., Leslie, F. M., Broide, R. S. y Loughlin, S. E. 1993. Long-term changes in striatal opioid system after 6-hydroxydopamine lesion of rat substantia nigra. *Neurosci*. 55(4): 935-951
- Smith, Y., Bevan, M. D., Shink, E. And Bolam, J. P. 1998. Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience*. 86 (2): 353-387.
- Seeman, P. y Niznik, H. B. 1990. Dopamine receptors and transporters in Parkinson's disease and schizophrenia. *FASEB Journal*. 4: 2737-2744. En: Strange, P. G. 1992. *Brain Biochemistry and Brain Disorders*. Oxford University Press. Cap 10.
- Segal, M. 1995. Dendritic spines for neuroprotection: a hypothesis. *TINS* 18(11): 468-471.
- Sidhu, A. 1998. Coupling of D1 and D2 dopamine receptors to multiple G proteins. *Molecular Neurobiology*. 16 (2): 125-134
- Somogyi, P., Bolam, J. P. y Smith, A. D. 1981. Monosynaptic cortical input and local axon collaterals on 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., Herminia-Amajearas, A., Muñoz-Patiño, A. M. y Lavandería-García, J. L. 2000. Autoxidation and neurotoxicity of 6-Hydroxydopamine in the presence of some antioxidants: Potential implication in relation to the pathogenesis of Parkinson's disease. *J. Neurochem*. 74: 1605-1612.
- Strange, P. G. 1992. *Brain Biochemistry and Brain Disorders*. Oxford University Press. Cap 10.
- Takahashi, H y Watabayashi, K. 2001. The cellular pathology of Parkinson's disease. *Neuropathology*. 21: 315-322
- Tanner, C. M. 1989. The role of environmental toxins in the etiology of parkinson's disease. *TINS* 12: 49-54
- Tolosa, E., Martí, M. J., Valldeoriola, F. y Molinuelo, J. L. 1998. History of levodopa and dopamine agonist in Parkinson's disease treatment. *Neurology*. 50 (Suppl 6): S2-S10
- Toran-Allerand, C. D. 1976. Sex steroids and the development of the newborn hypothalamus and preoptic area in vitro: implications for sexual differentiation. *Brain Res*. 106: 407-412
- Toran-Allerand, C. D., Singh, M. y Setalo, G. 1999. Novel mechanisms of estrogen action in the brain: new players in an old store. *Front. Neuroendocrinol*. 20: 97-121
- Tretiakoff, C. (These de Paris, 1919) En: García Hernandez, F y Massieu Trigo, L. 1993. Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: Avances teóricos y experimentales. *Ciencia*. 44: 455-472
- Trump, B. F. Y Berezsky, I. K. 1995. Calcium-mediated cell injury and cell death. *FASEB J*. 9: 219-228
- Ungerstedt, U. 1968. 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoaminergic neurons. *Eur. J. Pharmacol*. 5: 107-110

- Ungerstedt, U. y Arbunthnott, G. 1970. Quantitative recording of rotational behaviour in rats after 6-hydroxidopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res.* 24: 485-493.
- Ungerstedt, U. 1971a. Striatal dopamine release after amphetamine or nerve degeneration revealed by rotational behaviour. *Acta physiol. Scand., Suppl.* 367: 49-68.
- Ungerstedt, U. 1971b. Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigrostriatal system in the rat brain. *Acta physiol. Scand., Suppl.* 367: 69-93.
- Ungerstedt, U. 1971c. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta physiol. Scand., Suppl.* 367: 1-48.
- Ungerstedt, U. 1971d. Adipsia and Aphagia after 6-hydroxidopamine induced degeneration of the nigrostriatal dopamine system. *Scand., Suppl.* 367: 95-121
- Ungerstedt, U. 1974. Brain dopamine neurons and behavior. En: Schitt, F. O. y Worden, F. G. (Eds) *The Neuroscience. Third Study Program.* The MIT Press, Cambridge, Mass.
- Valente, E. M., Abou-Sleiman, P. M., Caputo, V., Muqit, M. M. K., Harvey, K., Gispert, S., Ali, Z., Del Turco, D., Bentivoglio, A. R., Healy, D. G., Albanese, A., Nussbaum, R., González-Maldonado, R., Sèller, T., Salvi, S., Cortelli, P., Gilks, W. P., Latchman, D. S., Harvey, R. J., Dallapiccola, B., Auburger, G., Wood, N. W. 2004. Hereditary Early-Onset Parkinson's Disease Caused by Mutations in PINK1. *Science.* 304: 1158-1160
- Van Rossum, D. Y Hanish, U. 1999. Cytoskeletal dynamics in dendritic spines: direct modulation by glutamate receptors?. *Trends in Neurosci.* 22: 290-295.
- Velasco, F. 1986. Enfermedad de Parkinson. *Arch. Invest. Med. México.* 10:108-117.
- Vernier, P., Julien, J. F., Rataboul, J., Fourrier, O., Feuerstein, C. y Mallet, J. 1988. Similar time course changes in striatal levels of glutamic acid decarboxylase and proenkephalin mRNA following dopaminergic deafferentation in the rat. *J. Neurochem.* 51: 1375-1380
- Villarroya-Pastor, M. T. 2001. Perfil de la enfermedad de Alzheimer en las mujeres. *Rev. Neurol.* 32: 1178-1181
- Voorn, P., Roest, J. y Jroenewegen, H. J. 1987. Increase of enkephalin and decrease of substance P immunoreactivity in the dorsal and ventral striatum of the rat after midbrain 6-hydroxidopamine lesions. *Brain Res.* 412: 391-396
- White, L. E., Hodges, H. D., Carnes, K. M., Price, J. L. Y Dubinsky, J. M. 1994. Colocalization of excitatory and inhibitory neurotransmitter markers in striatal projection neurons in the rat. *The Jour. Of Comp. Neurol.* 339: 328-340
- Wichmann, T. Y DeLong, M. R. 1993. Pathophysiology of parkinsonian motor abnormalities. En: Narabayashi, H., Nagatsu, T., Yanagisawa, N. Y Mizuno, Y. (Eds) *Advances in Neurology.* Vol. 60. Raven Press. Ltd. New York
- Wilse, P. M. 2001. The "menopause" and the aging brain: causes and repercussions of hypoestrogenicity. *Biogerontology.* 2: 113-115
- Wilson, J. C. 1998. The Basal Ganglia. In: Gordon M. Shepard (Ed.). *The synaptic organization of the brain.* Fourth Edition. Oxford University Press. New York. pp: 329-375
- Wolley, C. S., Gould, E., Frankfurt, M. y McEwen, B. S. 1990. Naturally occurring fluctuation in dendritic spines density on adult hippocampal pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 10: 4035-4039

Yelnik, J. 2002. Funcional Anatomy of the Basal Ganglia. Movement Disorders. Vol. 17. Sup. 3: S15-S21.

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 Denek, W. 1999. Mechanisms of clacium influx into hippocampal spines: heterogeneity among spines, coincidence detection by NMDA receptors, and optical quantal analysis. J. Neurosci. 19 (6): 1976-1987

Yuste, R. y Bonhoeffer, T. 2004. Genesis of dendritic spines: Insights from ultraestructural and imaging studies. Nature Revies. Neuroscience. 5: 24-34

Zecca L., Zucca F. A., Wilms H., y Suizer D. 2003. Neuromelanin of the substantia nigra: a neuronal black hole with protective and toxic characteristics. TRENDS in Neuroscience. 26 (11): 578-580.

Zhang, K., Tarazi, F. I. Y Baldessarini, R. J. 2001. Nigrostriatal dopaminergic denervation enhances dopamine D₄ receptor binding in rat caudate-putamen. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 69: 111-116

Zigmond, M. J. Abercrombie, E. D., Berger, T. W., Grace. A. A. Y Stricker, E. M. 1990. Compensations after lesions of central dopaminergic neurons : some clinical and basicimplications. TINS. 13(7): 290-295.

APÉNDICE 1

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN

1. Una vez fijado el cerebro se toman fragmentos del estriado dorsolateral.
2. Se colocan durante una hora en tetraóxido de Osmio al 1% preparado con PBS para la postfijación.
3. Posteriormente los fragmentos se lavan con PBS en tres cambios de 10 minutos cada uno.
4. DESHIDRATACIÓN: Se coloca el tejido en alcoholes en concentraciones crecientes (del 50% al 96%) durante lapsos de 10 minutos cada uno
5. Posteriormente, el tejido se coloca en alcohol al 100% por tres ocasiones de 10 minutos cada una.
6. El tejido se coloca en tolueno durante dos periodos de 10 minutos cada uno. Los fragmentos se infiltrarán en una mezcla de resina 1:1 araldita-tolueno a 60° C. Se mantienen por 12 horas en una mezcla 3:1 de araldita-tolueno a temperatura ambiente y los fragmentos ya infiltrados se incluirán en araldita pura a 60° C durante 24 horas.
7. Una vez que se polimerice la resina, se procederá a realizar los cortes finos de 900 A en un ultramicrotomo Reichert-Jung utilizando cuchillas de diamante.
8. Se montan los cortes en rejillas de cobre y se contrastan con acetato de uranilo al 5% durante 20 minutos y con citrato del plomo al 0.4% por 5 minutos.
9. Los cortes serán observados en un microscopio electrónico Jeol Jem 100 CX II y se llevará a cabo el análisis ultraestructural, realizando las mediciones directamente en la pantalla.

APÉNDICE 2

INMUNOCITOQUÍMICA PARA TIROXINA HIDROXILASA PARA MICROSCOPIA DE LUZ

1. Una vez fijado el cerebro se toma el mesencéfalo ventral y se hacen cortes de 50 micras en el vibratomo y se colocan en buffer PBS.
2. Se lavan los cortes 3 veces en buffer PBS durante 10 minutos cada vez, con agitación.
3. Se lavan los cortes 3 veces en buffer TRIS durante 10 minutos cada vez, con agitación.
4. Se preparan 5 ml de buffer TRIS con 3% de suero normal de cabra y 0.3% de Tritón y se sumergen los cortes 1 hora con agitación.
5. Se incuba el tejido en una alícuota (1:1) de anticuerpo primario ANTI-TH en buffer TRIS (1:1000) y 1% de suero normal de cabra por tres días a 4° C.
6. Se lavan los cortes tres veces en buffer TRIS con 1% de suero normal de cabra durante 10 minutos con agitación.
7. Se incuba el tejido por una hora a temperatura ambiente en el anticuerpo secundario ANTI-IgG de conejo (1:1000), en buffer TRIS con 1% de suero normal de cabra durante 10 minutos con agitación.
8. Se lavan los cortes 3 veces en buffer TRIS con 1% de suero normal de cabra durante 10 minutos con agitación.
9. Se incuba el tejido en ABIDITINA-BIOTINA (1:200) por una hora a temperatura ambiente en buffer TRIS con agitación. En 5 ml de TRIS se agrega una gota de A y una gota de B.
10. Se lavan los cortes 3 veces en buffer TRIS durante 10 minutos con agitación.
11. Se incuba el tejido en 3-3 DIAMINOBENZIDINA (DAB) al 0.05% y 0.003% de H₂O₂.

Preparación: 5 mg de DAB se disuelven en 10 ml de buffer TRIS, cuando este disuelta la DAB se agregarán 100 µl de H₂O₂. Incubar los cortes hasta que se tornen un poco oscuros (aprox. 5 minutos).

12. Se lavan los cortes 3 veces en buffer TRIS durante 10 minutos con agitación.

13. Montar los cortes en portaobjetos previamente gelatinizados y se dejar secar un día.

DESHIDRATACIÓN:

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

Alcohol 70% 2 recipientes

Alcohol 96% 2 recipientes

Alcohol 100% 2 recipientes

Xilol 2 recipientes

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