

64
2ej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

CONDUCTA DE GIRO PRODUCIDA POR LA ADMINISTRACION
INTRANIGRAL DE ROJO DE RUTENIO Y 4-AMINOPIRIDINA EN LA RATA

Tesis que para obtener el
título de Licenciado en
Biología presenta:

JORGE LUIS VALENTE FLORES HERNANDEZ

México D. F., Febrero de 1987.



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 está 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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE:

PROPOSITO GENERAL	4
INTRODUCCION:	5
1.-LA COMUNICACION CELULAR.	5
2.-LA TRANSMISION SINAPTICA.	8
2.1.-La sinapsis eléctrica.	10
2.2.-La sinapsis química.	12
2.2.1.-Aspectos morfológicos de la sinapsis química.	12
La presinapsis.	15
La postsinapsis.	18
2.2.2.-Aspectos funcionales de la sinápsis química.	19
4.-EL CALCIO Y LA SECRECION DE NEUROTRANSMISORES.	26
4.1.-Importancia biológica del calcio.	26
4.2.-La función del calcio en la transmisión sináptica.	29
5.-LA CONDUCTA DE GIRO.	32
5.1.-Estructuras que al ser alteradas inducen la conducta de giro.	33
5.2.-Neurotransmisores y la conducta de giro.	36
6.-LA SUSTANCIA NEGRA Y LA CONDUCTA DE GIRO.	43
Las relaciones anatómicas y fisiológicas con otras estructuras	
Aferencias y eferencias.	45
Citología de la sustancia nigra.	47
OBJETIVOS.	51
METODOLOGIA.	52
RESULTADOS.	57
DISCUSION.	67
RESUMEN Y CONCLUSIONES.	72
BIBLIOGRAFIA.	74

PROPOSITO GENERAL

El estudio de los mecanismos que median la liberación de neurotransmisores en el sistema nervioso central ha sido muy intenso en los últimos años. Los estudios han incluido experimentos realizados en diferentes preparaciones de tejido nervioso, como las rebanadas, los homogenados, los sinaptosomas, etc. En estos modelos en principio se altera la organización natural del sistema nervioso, como la citoarquitectura y funcionalidad de las estructuras analizadas, así como el suministro de oxígeno y glucosa. En la presente tesis se estudió el efecto in vivo de drogas que alteran el flujo de calcio y por ende la liberación de neurotransmisores, mediante su inyección directa en la sustancia negra de la rata, efecto que podría manifestarse conductualmente, ya que se conoce que la alteración unilateral de la fisiología de esta región cerebral se acompaña de un comportamiento ambulatorio circular llamado conducta de giro. Así, este enfoque constituye un modelo experimental in vivo que permitirá estudiar la relación entre los mecanismos que regulan la liberación de transmisores y la conducta motora en la que participa la sustancia negra.

INTRODUCCION

1.- LA COMUNICACION CELULAR.

La capacidad de comunicarse entre sí es la propiedad fundamental de los seres vivos. La comunicación puede, según Rasmussen, tener lugar de dos maneras: la primera consiste en una comunicación directa de una célula a la siguiente por vía de nervios, ó de manera indirecta via mensajeros químicos dentro del sistema circulatorio (Rasmussen, 1970). En referencia a éste punto Pierce (Stent, 1972), postula tres tipos de información que pueden ser transmitidos, a nivel celular, en los seres vivos: la información genética, la metabólica y la nerviosa. La información genética está codificada en una precisa secuencia de las cuatro bases nitrogenadas, la adenina, la guanina, la citosina y la timina, que conforman la molécula del ADN, y es traducida a las proteínas estructurales y funcionales de los organismos. El segundo tipo de información, la metabólica está dada por la calidad y concentración de moléculas grandes y pequeñas que participan en los procesos por los que las células se reproducen, desarrollan y mantienen su estado viviente. En éste tipo de información están las hormonas, cuyo papel fundamental es llevar un mensaje químico a células blanco, localizadas en lugares distantes de donde son secretadas, o bien, por sustancias que se encuentran dentro de la célula, y que van a regular

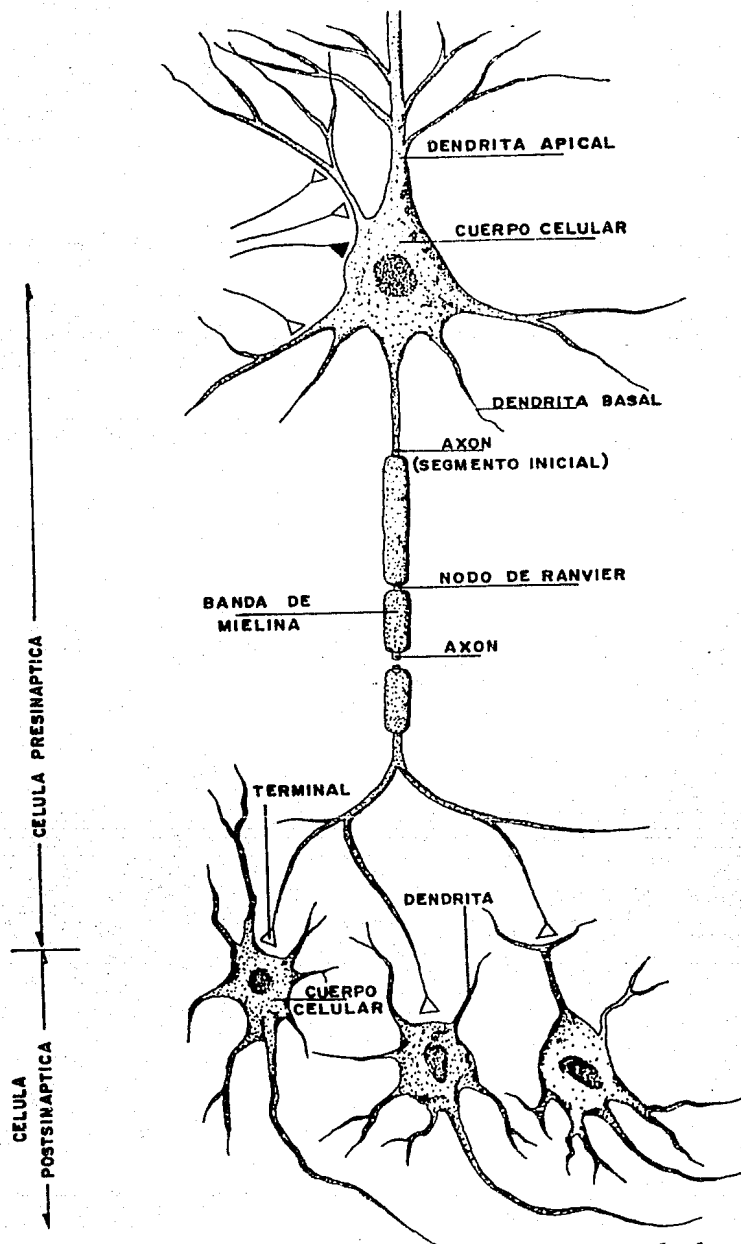


Fig. - 1 Estructura esquemática de una célula nerviosa.

su metabolismo general. El tercer tipo de información, la nerviosa, la cual es transmitida de neurona a neurona, a través de señales codificadas en impulsos eléctricos o potenciales de acción que viajan a través del axón, el cual junto con el soma y las dendritas conforma la neurona (fig 1). El potencial de acción es el mecanismo por el cual las células cerebrales conducen la información a lo largo del axón hacia otras neuronas o a los músculos. Los potenciales de acción son cambios repentinos del potencial de membrana, que duran de unas diezmilésimas a milésimas de segundo (Guyton, 1985). Dichas señales, después de viajar en forma de una corriente de despolarización bidireccional en las células excitables, que son traducidas al llegar a la terminal sináptica en mensajes químicos, a través de sustancias neuroactivas o neurotransmisores que son liberados de una célula neural a la siguiente, en un mecanismo conocido como la transmisión sináptica.

2.- LA TRANSMISION SINAPTICA

Fue Charles Sherrington en 1906 quien acuñó el término sinapsis (del griego "synapsis", unión), con el cual definía la existencia de una zona de comunicación interneuronal que ocasionaba un pequeño retardo en la respuesta de un arco reflejo. Se definió así por primera vez la sinapsis en terminos fisiológicos, mientras que Don Santiago Ramón y Cajal, en su doctrina de la neurona en 1909-1911 (Pappas y Waxman, 1972), se refería a ella desde el punto de vista morfológico, basándose en observaciones obtenidas con las técnicas argénticas.

La sinapsis implica el paso de información codificada en potenciales de acción de una célula emisora ó presináptica, a una célula receptora o postsináptica. Este proceso puede realizarse por en dos mecanismos, los cuales desde los años 30s estuvieron en debate: los fisiólogos encabezados por Eccles y los farmacólogos dirigidos por Dale (Kandel y Siebelgaum, 1985). Ambos asumían que la transmisión sináptica operaba por un mecanismo simple y universal. Los fisiólogos argüían que la transmisión sináptica era eléctrica -que se debía a un flujo de corriente, desde la célula presináptica a la postsináptica por un paso directo-. Los farmacólogos argüían que ésta era de tipo químico -que era debida a un mediador químico (una sustancia transmisora ó neurotransmisor) liberado por la neurona presináptica, y que al llegar a la neurona postsináptica iniciaba en ésta, un flujo de corriente que desencadenaba una alteración en el potencial de

reposito dando como resultado un potencial de acción en la célula postsináptica-.

Cuando se implantaron las técnicas electrofisiológicas entre los 50s y 60s, fue claro que las sinápsis no operaban con un mecanismo universal. Los trabajos de Fatt y Katz, de Eccles, y los de Furshpan y Potter mostraron que ambos mecanismos ocurrían en el sistema nervioso, y que la mayoría era de tipo químico. Algunas, sin embargo, operaban por medios puramente eléctricos (Kandel y Siegelbaum, 1985). Además con la ayuda de la microscopía electrónica fue posible analizar la estructura fina de la terminal sináptica, con lo que se descubrió que la transmisión sináptica sólo ocurría en pequeñas porciones donde las células presináptica y postsináptica se encontraban acopladas. A partir de las características de esta zona de aposición fue posible diferenciar dos tipos de sinápsis en términos morfológicos, las sinápsis en las que el citoplasma se encuentra comunicado a través de canales membranales, y aquellas en las que tal comunicación directa no existe. Estas dos clases morfológicas de sinápsis correspondieron a las ya mencionadas anteriormente, las sinápsis eléctricas / las químicas respectivamente.

2.1.- La Sinapsis Eléctrica

En la sinapsis de tipo eléctrico como se mencionó antes, presentan continuidad citoplásmica, la cual se debida a las uniones de "gap" o uniones comunicantes, a través de las cuales se comunica el citoplasma de una célula con la siguiente. En este tipo de sinapsis, como puede ser observado en la figura 2, las

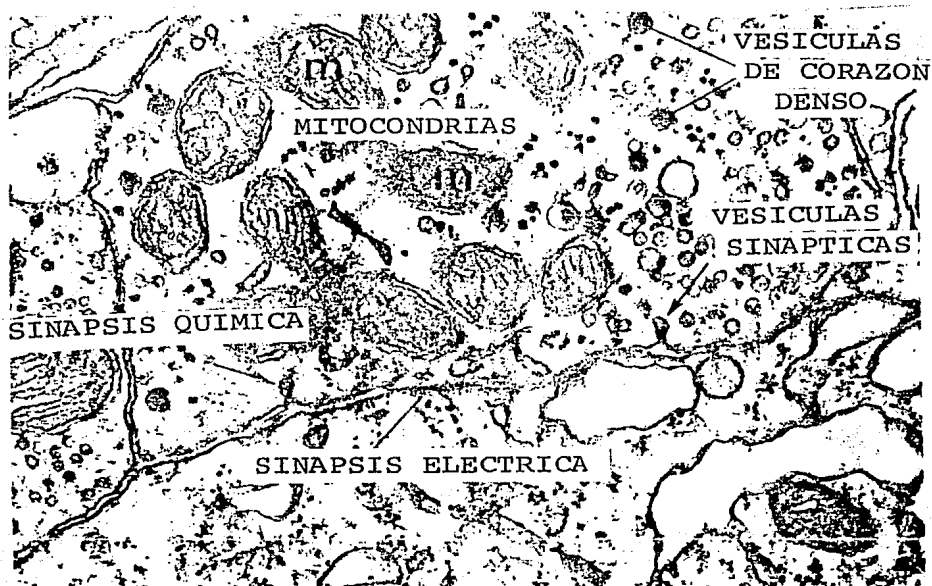


Fig.- 2 Micrografía electrónica de una sinapsis de tipo eléctrico.

membranas citoplásmicas de las neuronas en las zonas de contacto o aposición están separadas por una brecha de sólo 2.7 nm, aproximadamente un décimo de la distancia que existe donde no está presente este tipo de unión (Bennet and Gordonough, 1978). Cuando dos estructuras "gap", una de cada célula, entran en contacto, como se muestra en la figura 3, forman un canal a través del cual se comunica el citoplasma de ambas células,

mediante el flujo iones y pequeñas moléculas con pesos moleculares menores de 1000 daltones y un diámetro no mayor de 1.5 nm.

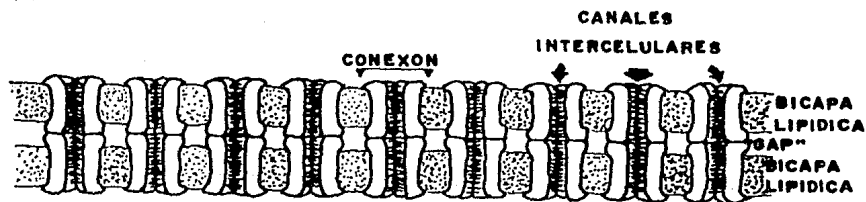


Fig.- 3 La interacción de dos estructuras GAP forma un canal de comunicación citoplásmica.

Gracias a que ha sido posible aislar estas zonas de unión (a partir principalmente de homogenados de tejido hepático), se ha logrado conocer la estructura molecular que la conforma. Estas estructuras se organizan hexagonalmente por seis subunidades conocidas como conexones, donde cada conexon está formado por una proteína llamada conexina que tiene un peso molecular de entre de 25,000 a 34,000 daltones (Bennet and Goodenough, 1978) (fig. 4).

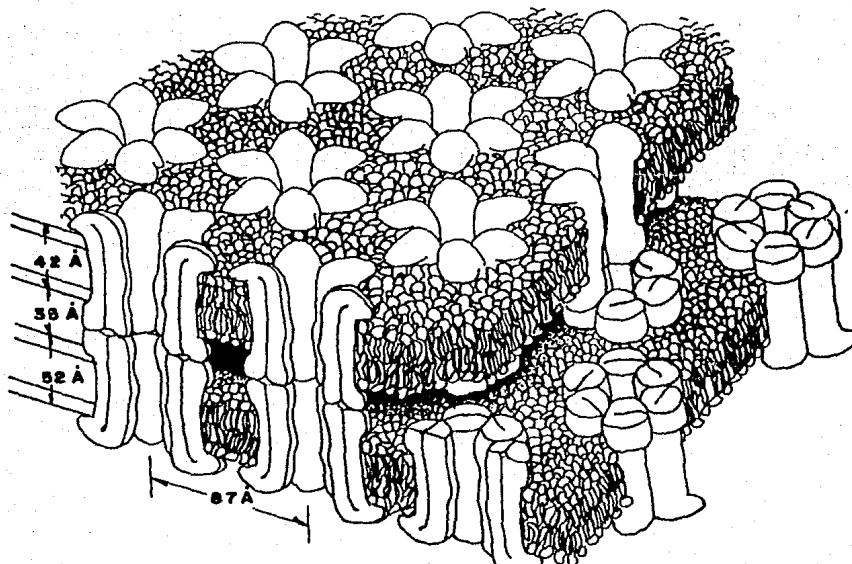


Fig.- 4 Estructura molecular de la unión comunicante o "gap".

Cuando entre dos neuronas existe una sinápsis eléctrica, también existe una continuidad citoplásmica, por lo que al viajar un potencial de acción a través del axón, y llegando éste a la terminal sináptica, induce una entrada de carga positiva producida por la entrada de iones Na^+ desde el exterior de la célula presináptica al interior de la postsináptica, a través de las uniones "gap".

2.2.- La Sinapsis Química

2.2.1.- Aspectos morfológicos de la sinapsis química

El proceso de la transmisión sináptica química es básicamente un fenómeno secretorio, donde la sustancia secretada tendrá como blanco, a la región postsináptica de otras neuronas o de células del sistema endócrino y muscular.

La sinapsis química que se caracteriza por que no hay contacto entre las membranas. Entre ellas existe una separación o espacio sináptico de 30 a 50 nm. Las terminales axónicas pueden establecer sinapsis con diferentes regiones de la neurona postsináptica dando lugar a las sinapsis: axosomática, axodendrítica (axoespinosa), axoaxónica, dendrodendrítica y somatosomática (fig. 5).

AXOSOMÁTICA

AXODENDRÍTICA

AXOAXÓNICA

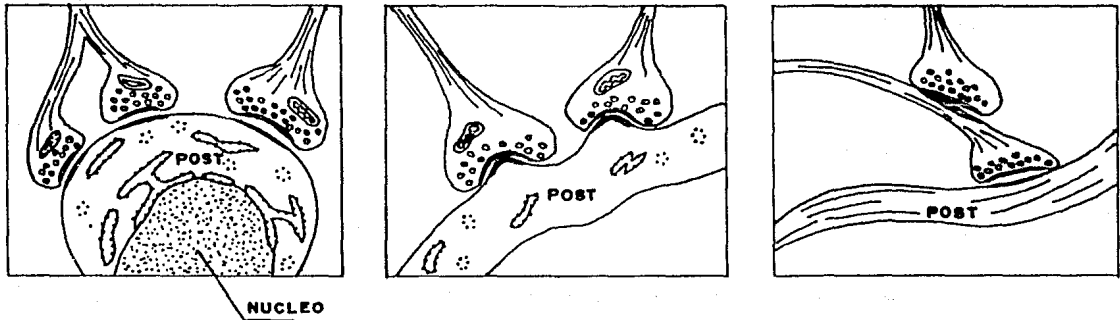


Fig. 5.- Diferentes tipos de unión sináptica.

La prelinapsis.

La terminal presináptica contiene de manera general: mitocondrias, cuerpos multivesiculares y algunos elementos tubulares de retículo endoplásmico, así como las vesículas sinápticas, las cuales son las estructuras más características, y junto con el material electrodenso cercano a las membranas pre y post-sinápticas dan a la zona de contacto una apariencia asimétrica (fig. 5). Dichas vesículas se pueden encontrar concentradas cerca del componente membranal presináptico (Pappas y Waxman, 1972). Se ha postulado que estas contienen el transmisor químico. Este fenómeno está relacionado con las observaciones de del Castillo y Katz en 1957, quienes indicaban que los neurotransmisores eran liberados de manera cuántica, por lo que se sugirió que dichas vesículas son la unidad elemental de liberación (Gorshon, Schwartz y Mandel, 1968). Se ha intentado clasificar las terminales sinápticas por diferentes características, como el área, la

forma, etc. Sin embargo, existen dos clasificaciones de sinapsis que son aceptadas de manera general: la clasificación de Gray en 1959 (Akert, Pfenniger, Sandri y Moor, 1972; y Kandel, 1985), que se dividen en Gray I y II, las de tipo I son consideradas excitadoras, presentan una condensación densa en la membrana postsináptica, contienen principalmente vesículas esféricas ó de tipo S como también se les conoce, y el espacio sináptico es más amplio que en las del tipo II. Las sinapsis del tipo II presentan condensaciones en las membranas pre y postsinápticas de igual espesor (menor que en las de tipo I), contienen vesículas alargadas y el espacio sináptico es muy reducido. Se postula que son inhibitorias.

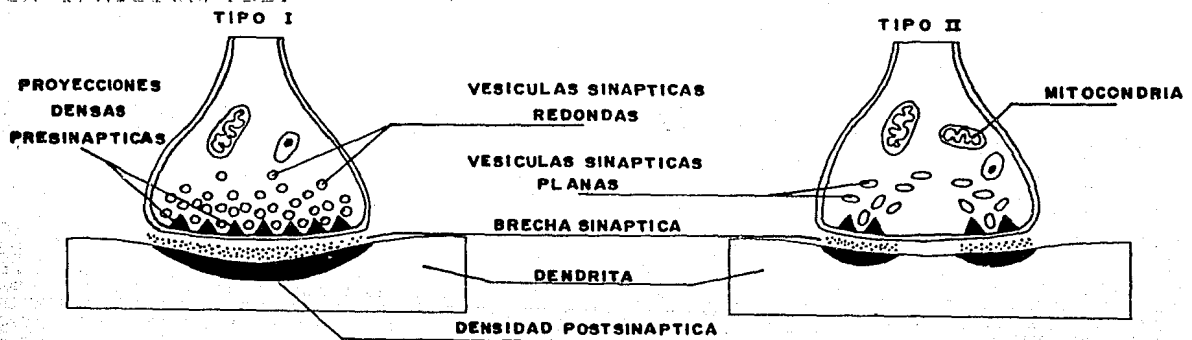


Fig. 6 La sinapsis. Tomado de Kandel, 1985.

La segunda clasificación de terminales sinápticas fué planteada por Rodian (1972), según la cual existen cinco clases de terminales sinápticas, las cuales se mencionan a continuación:

Clase I .- Estas terminales contienen vesículas esféricas

agranulares, con alta resistencia al aplanamiento. Son semejantes a las uniones Gray del tipo I. Son denominadas bulbos o terminales "S". Están presentes sobre dendritas y soma de motoneuronas. Aparecen primero en el desarrollo embrionario, en el momento en que se inician los reflejos cutáneos y son al parecer excitadoras; constituyen el 46% de todas las terminales sobre las motoneuronas.

Clase II .- Este tipo de terminales sinápticas presentan vesículas sinápticas aplanadas después de la fijación con glutaraldehído. Los bulbos de este tipo constituyen el 40% de las terminales del neuropilo motoneuronal de monos. Son denominadas terminales del tipo "F".

Clase III .- En este tipo las vesículas sinápticas están definidas por un nivel intermedio de susceptibilidad al aplanamiento después de la fijación con glutaraldehído. En la médula espinal, esta clase está representada por un agregado de dos ó tres botones adosados a una cisterna subsináptica unida al cuerpo de Nissl. No se observan densidades pre y postsináptica. Son denominadas terminales "L". Son semejantes a las terminales colinérgicas periféricas, así como a las terminales olivo-cocleares y células pilosas del órgano de Corti. Se cree que son inhibitorias.

Clase IV .- Poseen vesículas más regulares en tamaño y forma que la Clase I, y son menos resistentes al aplanamiento. Este tipo de terminal degenera después de cortar las raíces dorsales. Se pueden encontrar en serie o formando complejos glomerulares. Son conocidos como terminales de tipo "R".

Clase V .- Este tipo de terminal con una alta proporción de vesículas granulares grandes (miden de 60 a 80 nm). Las vesí-

culas agranulares de este tipo de terminal tienen forma esferoi-
dal, pero no se ha definido su resistencia al aplanamiento. Son
conocidas como terminales "O".

Con las observaciones a microscopía electrónica de alta
resolución, se observó que las vesículas sinápticas no estaban
dispersas al azar, sino que estaban concentradas, y que la llega-
da al sitio de su liberación no era por simple movimiento brow-
niano, como proponían del Castillo y Katz en 1957, sino que
estaban asociadas a la vecindad de la membrana donde existía una
mayor densidad óptica. Cuando Couteaux introdujo la técnica del
ácido fosfotúngstico (para teñir proteínas contráctiles de múscu-
lo y neuronas), descubrió que dicha densidad correspondía a una
serie de barras densas localizadas en la superficie interna de la
membrana. A partir de las especializaciones antes mencionadas
(vesículas sinápticas y zonas de densidad presináptica), él defi-
nió la zona activa para describir la región especializada y
restringida dentro de la terminal presináptica, donde el neuro-
transmisor es liberado (Gershon, Schwartz y Kandel, 1985).

Con las técnicas de crio-fractura, Reese y Heuser encontra-
ron 4 observaciones clave para el entendimiento de los procesos
de liberación: 1.- Las barras densas reportadas por Couteaux eran
fácilmente identificables debido a que desplazaban el plasmalema
ligeramente. 2.- Una o dos franjas de partículas intermembranales
particularmente grandes encontradas a lo largo de los márgenes de
cada barra. Dichas partículas parecían ser especializaciones
permanentes involucradas en la descarga de vesículas sinápticas.
Aunque su función no es aún conocida, se cree que puedan ser

canales de calcio, idea consistente con los estudios de Llinás, los cuales indican que el corto retardo sináptico entre el inicio de la corriente de calcio, y la liberación del transmisor, en los estudios realizados en la sinapsis gigante del calamar. Esta corta latencia sugiere que los canales de calcio y la zona de liberación de los transmisores están muy cercanos. 3.- Durante la actividad sináptica, las deformaciones a lo largo de las franjas se hacen aparentes en la zona donde a microscopía electrónica de secciones delgadas, se muestran las invaginaciones del plasmalema. 4.- Tales deformaciones no persisten después que el transmisor ha sido liberado.

El espacio formado entre las membranas en la zona de contacto, es conocido como brecha ó espacio sináptico (fig 6). En estudios realizados por Hess en 1953 con microscopía de luz, al descubrir material PAS-positivo, sugirió la presencia de mucopolisacaridos en el neurópilo. Estudios que fueron confirmados por Rambourg y Le Blend en 1964, en observaciones a microscopía electrónica, donde encontraron la presencia de mucopolisacaridos en la brecha presináptica. Así mismo, había sido demostrada la presencia de proteína por Bloom y Adhajianian en 1966 (Peppas y Waxman, 1972). De esta manera tenemos que la brecha sináptica contiene de manera general carbohidratos y proteínas, que de una manera similar son encontrados en el glicocalix de otros tipos celulares.

Existe una capa de tejido conectivo llamado lámina basal entre las membranas pre y postsinápticas de la sinapsis neuromuscular, pero no ha sido encontrada en otras. Se ha encontrado que

unida a la lámina basal se encuentra la acetilcolinesterasa, enzima que se encarga de degradar a la acetilcolina después de ser liberada al espacio sináptico (Gershon, Schwartz y Kandel, 1985).

La postsinapsis

Aunque de manera general no se describen estructuras morfológicamente específicas para la región postsináptica, como las vesículas en el caso de la región presináptica, es frecuente encontrar asociada a la membrana postsináptica una zona de material denso citoplásmico (fig. 7), y en ocasiones cisternas subsinápticas, el aparato espinal dendrítico (característico de la sinapsis de tipo axodendrítica), cuerpos multivesiculares y especializaciones micropinocitóticas (Pappas y Waxman, 1972). Sin embargo, la especialización más importante de la región postsináptica no puede ser identificada fácilmente a nivel morfológico como se ha hecho para la estructura presináptica, sino a un nivel bioquímico. Esta especialización bioquímica es el receptor de los neurotransmisores liberados al espacio sináptico. Sólo en algunos casos, como en el órgano eléctrico de Torpedo californica, el receptor para la acetilcolina ha podido observarse con ayuda de la criofractura (Gershon, Schwartz y Kandel, 1985).

3.2.2.-Aspectos funcionales de la sinapsis química.

El origen de la teoría química de la transmisión nerviosa puede remontarse a Du Bois Raymond quien postuló, en 1848, la secreción de una sustancia excitadora como causante de la contracción muscular. Elliot sugiere, en 1904, cuando descubre que la adrenalina mimetiza la acción de los nervios simpáticos, que esta sustancia podría ser secretada por las terminales nerviosas de los nervios simpáticos y actuar como transmisor en la glándula suprarrenal. Y fué 20 años después, cuando se tomó en consideración esta teoría, a partir de las observaciones de Otto Loewi quien demostró que al perfundir el corazón de la rana y simultáneamente estimular el nervio vago con electricidad, el latido del corazón disminuye ó se detiene; y que cuando en el fluido que bañaba dicho órgano se colóca otro corazón sin estimular, se induce una inhibición del latido. Concluyó que el estímulo nervioso induce la liberación de una sustancia inhibidora. Estudios posteriores mostraron que dicha sustancia es la acetilcolina (Sandoval y Lara, 1987).

Un agente neuroactivo ó neurotransmisor es definido como una sustancia que es liberada sinápticamente por una neurona y que afecta a otra célula (neurona u órgano efector) en una manera específica (Kandel, 1985).

La característica más importante en cuanto a la función del transmisor químico es el mecanismo por el cual interactúa y causa una alteración en la membrana postsináptica. Se observó que el transmisor no actuaba de manera directa con la bicapa lipídica, ni sobre las proteínas integrales de la membrana celular; por lo

cual se supuso que el transmisor tenía que actuar sobre alguna estructura específica. Ehrlich en 1900 utilizó la palabra receptor para explicar la acción selectiva de toxinas y otros agentes farmacológicos, así como la especificidad de reacciones inmunológicas. Él dijo que " las sustancias químicas sólo son capaces de ejercer una acción sobre los elementos del tejido, con los cuales ellos son capaces de establecer una íntima relación química.....(Esta relación) puede ser específica..... los grupos (químicos) pueden ser adaptables entre una estructura y otra a manera de una llave-cerradura ".

Los receptores son complejos proteínicos especiales que están presentes en las membranas de las células.

Los efectos de los transmisores no están dados por las características específicas de éstos, sino por el resultado de su interacción con los receptores. Es el receptor al que determina si la sinapsis es excitadora o inhibidora. Por ejemplo, la acetilcolina puede excitar en algunas, como en la placa neuromuscular, e inhibir en otras como en el corazón, o pueden, incluso, presentar ambos efectos en una misma sinapsis. Otro ejemplo es el de las catecolaminas que pueden inhibir en algunas neuronas, mientras que en otras pueden producir cambios en la excitabilidad a través de un incremento en la síntesis de α AMP, y en otras producir ambos efectos (Schwartz, 1985).

Los receptores para mensajeros químicos tienen dos características bioquímicas en común:

- 1.- Su localización es en la cara externa de las membranas. Esto es importante para su interacción con el neurotransmisor, el cual llega a través de la brecha sináptica.

2. Ellos son proteínas con sitios activos que unen el mensajero químico. Y además, como en el caso del receptor nicotínico para acetilcolina, parte tanto el sistema de degradación del mensajero dentro del complejo proteínico que lo sintetiza.

Elas características que se le daban al neurotransmisor eran: solubilidad de bajo peso molecular, capaz de modificar la conductividad de la parte postsináptica donde ejerce su acción. Lo que, sin embargo, tampoco la definición de un neurotransmisor era clara, no había criterios experimentales que se pudiesen seguir para aceptar ó no a un neurotransmisor putativo. Con esta idea G. Harsanyi intentó, en 1966, formalizar los criterios de identificación de los mediadores químicos del sistema nervioso. Harsanyi, vió que el desarrollo de nuevas técnicas de experimentación hace notar los aspectos fisiológicos y farmacológicos. De esta manera establece como criterio que tiene que llenar una sustancia para ser considerada como neurotransmisor, y que son los siguientes: 1) Identidad de acción; 2) Síntesis; 3) Inactivación; 4) Presencia; 5) Liberación; y 6) Identidad farmacológica.

En una revisión reciente (Harsanyi, 1985), dichos criterios son reducidos a cuatro, que son los siguientes:

1. Ser sintetizado en la neurona.
2. Estar presente en la terminal presináptica y ser liberado en cantidades suficientes para ejercer su supuesta acción sobre la neurona postsináptica u órgano efector.

3. Cuando son aplicados exógenamente (como una droga) en concentraciones razonables, ciertos fármacos ejercen la acción del neurotransmisor liberado volúntariamente (por ejemplo que activen canales iónicos en la parte postsináptica).
4. Que existe un mecanismo específico para recuperar el nivel de acción (la brecha sináptica).

La función que van a realizar los agentes químicos liberados de la presináptica, dependiendo del estado de éste en la postsináptica. En general se han clasificado los sinápticos en excitadores e inhibidores. En los primeros, el efecto del mediador produce una disminución del potencial de reposo de la membrana postsináptica, producido por una entrada de iones Na^+ e Ca^{2+} de un canal sensible al voltaje exclusivo para dicho ión, por tanto haciéndolo más excitable, ésta es, avanzando el potencial de la célula hacia el umbral de despolarización. En los segundos el mediador produce un aumento en el potencial de la membrana, vía una hiperpolarización producida por la entrada de Cl^- ó por la salida de K^+ ó por disminución en la síntesis ó liberación del mediador excitador (inhibición presináptica), y por lo tanto, disminuyendo la excitabilidad de la neurona que recibió dicho agente (Kandel, 1983).

Algunas de las sustancias que han sido aceptadas como posibles neurotransmisoras dentro del sistema nervioso son presentadas junto con la enzima limitante en su síntesis. Tabla 1.

Tabla 1. Algunas moléculas neurotransmisoras y sus acciones limitadas de síntesis.

Transmisor	Enzima	Función
Acetilcolina	Colina acetiltransferasa	excitadora
Aminoácidos		
Dopamina	Tirosina hidroxilasa	inhibidora
Morfinina	Dopamina hidroxilasa	excitadora
Serotonina	Triptofano hidroxilasa	excitadora
Histamina	Histidina descarboxilasa	?
Aminoácidos		
Ácido GABA	GABA aminotransferasa	inhibidora
Glicina	Glicina hidroximetiltransferasa	inhibidora
Glutamato	L-glutamato dehidrogenasa	excitadora

Modificado de Mandel, 1985.

Además, en años recientes han sido postulados como posibles neurotransmisores, cerca de 30 péptidos cortos que son farmacológicamente activos. Estos péptidos causan inhibición, excitación o ambos efectos cuando son administrados localmente. Algunos de estos compuestos habían sido previamente caracterizados como hormonas, con blancos conocidos fuera del sistema nervioso, como la angiotensina y gastrina, o como productos de secreción neuroendocrina como la oxitocina, vasopresina, somatostatina, etc. Actualmente se han agrupado a los péptidos neurotransmisores por familias, éstas son presentadas en la Tabla 2.

Tabla 3. Familias de péptidos neuroactivos.

Opioides:	enkefalinas, endorfinas, dinorfina, EMRF amida
Neurohipofisarias:	vasopresina, oxitocina, neurofisinas
Taquikininas:	substancia P, flextanina, bradicina, sparolaina, urodalina
Secretinas:	secretina, glucagón, péptido vaso-intestinal, péptido inhibidor gástrico, factor liberador de la hormona de crecimiento, péptido histidina-isoleucínica
Insulinas:	insulina, somatostatina, galaxina, factor de crecimiento nervioso
Somatostatinas:	somatostatina, polipéptido pancreático
Gastrinas:	gastrina, colecistoquina

Tomado de Mandel, 1987.

Originalmente, se postuló con el Principio de Dale, la existencia de uno, y sólo un neurotransmisor por terminal, o más generalmente, por neurona. Sin embargo, actualmente se reconoce la existencia de péptidos neuroactivos con neurotransmisores clásicos en las células nerviosas (Lundberg y Hokfelt, 1983). De los estudios realizados con técnicas inmunocitoquímicas, se han encontrado en coexistencia a algunos de los péptidos neuroactivos y los neurotransmisores clásicos, y que son anunciados en la Tabla 3.

Tabla 3. Péptidos neuroactivos que coinciden con neurotransmisores clásicos.

TRANSMISOR	PÉPTIDO
Acetilcolina	Péptido vasoactivo intestinal
Glutamato	Enkefalina Met-enkefalina Neurotensina
GABA	Galantamina Enkefalina
Dopamina	Enkefalina
Adrenalina	Enkefalina
Epinefrina	Enkefalina
5HT	Enkefalina
	Substancia P Hormona liberadora de la tirotropina
	Galantamina Met-enkefalina

Trasada de Lundberg y Höfberg, 1987.

4.- EL CALCIO Y LA SECRECIÓN DE NEUROTRANSMISORES.

El proceso de liberación de neurotransmisores es básicamente un fenómeno controlado. La liberación que dicho evento requiere de la presencia de calcio en el exterior de la célula. Cuando ocurre una despolarización, hay un incremento de la permeabilidad al Ca^{2+} , incremento que se traduce en un disparo de las acciones de liberación. Sin embargo, aunque se sabe de la necesidad de este ión en el proceso, aún no se conoce cual es el papel que desempeña dentro de los procesos moleculares de la transmisión sináptica química.

3.1.- Importancia biológica del calcio.

Todas las células vivientes están bañadas por un fluido extracelular que difiere en composición del medio intracelular. La actividad de las células está caracterizada por alteraciones en la permeabilidad de membrana, y el movimiento resultante de iones a través de ésta.

Las complejas funciones que las células han desarrollado requieren de mensajes entre el medio externo e interno. Así, el sodio, el potasio, magnesio y el calcio tienen papeles importantes en la actividad biológica, pero el calcio, debido a sus propiedades únicas, es el más crucial en términos de la gran variedad de funciones que puede llevar a cabo.

La alta concentración de calcio en el medio intracelular se mantiene por un complejo sistema de consumo y expulsión. En

relación con el calcio, el calcio libre se encuentra a una concentración de 1/100 (Rubin, 1967) y el influxo de calcio es 1000 veces más pequeño que el de sodio.

En 1977, Gulley y Campbell describieron los cuatro papeles principales del calcio en los eritrocitos: 1. Estructural, como constituyente de hueso y membranas; 2. Colector de reacciones enzimáticas, particularmente aquellas localizadas en la membrana (como la conversión de protrombina a trombina) o sobre la superficie celular (como la adretilo cilasa, la fosfolipasa A2); 3. Estabilizador de la membrana y acercador de carga hacia el interior celular; y 4. Regulador intracelular de algunas proteínas fundamentales como la coagulación, contracción, flujo de iones, y acción hormonal (como la glucagonolisis) (Rubin, 1988).

Los estudios realizados a mediados del siglo XVIII, sobre el efecto de diferentes constituyentes de la sangre en preparar cilindros de corazón mantenido en incubación, llevaron a Sidney Ringer a descubrir, por accidente, en 1893, que cuando la solución de cloruro de sodio era agregada al medio de incubación, éste era capaz de producir una caída en la frecuencia de contracción del ventrículo. Él percibió que una pequeña cantidad de calcio presente en el medio antagonizaba dicho efecto en los tejidos animales. Los trabajos de Ringer son las primeras evidencias documentadas del papel crítico del calcio en sistemas biológicos.

Este estudio clásico, fue el realizado por Locks, en 1924, quien encontró que cuando se agrega la preparación de nervio

entre los iones del músculo cardíaco.

No fue sino hasta 1942, en que Louis Rosenbrat descubrió que el nervio libera una sustancia química de una manera dependiente de voltaje, que fue identificada como el acetilcolina química, con lo que el concepto de transmisión química fue claramente establecido.

3.2. - La Función del Calcio en la Transmisión Sináptica.

El tiempo que tarda en pasar un estímulo nervioso desde el momento en que es detectado en la región presináptica hasta que es liberado en la región postsináptica en la sinapsis de tipo químico, se conoce en relación al tiempo que tarda en cruzar la fibra desde la región pre a la postsináptica en la sinapsis eléctrica. Este tiempo, se conoce como retardo sináptico. Se ha intentado explicar en función de los procesos que tienen que suceder para que el neurotransmisor sea liberado de la presináptica, atraviese el espacio o brecha sináptica, llegue a la membrana postsináptica e interactúe con su receptor. Uno de estos procesos es el influjo de calcio en la terminal presináptica (Erick, 1954; Katz and Milner, 1947).

Es bien conocida la necesidad del ión calcio para el proceso de liberación de neurotransmisor en la región presináptica a la brecha sináptica; necesidad que fue originalmente propuesta por Katz y Milner en 1947 (Milner and Slater, 1945). Ellos propusieron, con base en estudios de la placa neuromuscular de rana, que el calcio entraba a la terminal sináptica como un primer paso para la liberación de acetilcolina de la terminal nerviosa. La hipótesis de que el calcio entraba a la terminal nerviosa de una

manera dependiente de voltaje es apoyada por los estudios realizados en la sinapsis gigante y el ganglio controlado del molusca *Hydrobia ulter*, 1974; Hayikawa, 1979. En los experimentos realizados por Hillel, cuando se inhibió calcio intracelularmente en la terminal presináptica, se observó un aumento en la liberación neuronal de neurotransmisores, aun cuando había sido bloqueado la despolarización presináptica. Otros estudios realizados en preparación de microtubulos (estructuras neuronales que son vitales en términos nerviosos de la corteza cerebral), han demostrado una liberación de neurotransmisores dependiente de calcio, así como la interacción del calcio con la membrana sináptica mediante el complejo de proteínas y anticuerpos del calcio como el lactato, y el colorante inorgánico rojo de rubio (RRu) (Tapia y Arias, 1971; Tapia, Gómez y Morales, 1978; Tapia, Arias y Morales, 1978). Aunque no se conoce con certeza el modo de acción del rojo de rubio existen autores como Hirschman (1976) quien propone un efecto del rojo de rubio a través de la interacción con residuos de ácido silícico. Asimismo, Dainum y colaboradores (1981) probaron el efecto de este compuesto en el ensamblaje y desensamblaje de microtubulos y en el transporte axonal rápido. Sin embargo, en su reporte no quedó claro si el efecto del rojo de rubio actúa como un antagonista de calcio.

Por otro lado, existe la evidencia de que las aminopiridinas como la 4 aminopiridina y la 3,4 dicloropiridina facilitan el flujo de calcio a concentraciones en la que se ha observado un incremento de la liberación de neurotransmisores, sin llegar a

Las concentraciones necesarias para bloquear el canal de calcio. (Lundh and Orskov, 1977; Lundh, 1978; Threlkoff, 1980; Kita et al., 1981; Nagawa y Barker, 1979; Kita et al., 1985). En 1980, Tepic y Silega proponen una posible participación de la 1-aminopiridina sobre la liberación espontánea de neurotransmisores. Asimismo, en experimentos in vitro Tepic y colaboradores demostraron que la 1-aminopiridina facilita la unión del calcio asociado a la neurotransmisión con la grabación de síntomas (Tepic et al., 1985).

El empleo de sustancias que antagonizan el efecto del calcio, como el caso de ruténio, ha sido muy útil para tratar de entender, a través de diferentes modelos, la función del calcio en los mecanismos de liberación de neurotransmisores. Además de los experimentos in vitro en sinaptosomas ya mencionados, se han realizado estudios in vivo del efecto del rojo de ruténio. En dichos experimentos, se produce una alteración motora que se caracteriza por una parálisis flácida, después de la administración IP de rojo de ruténio a ratones (Tepic, 1985). Este efecto puede ser bloqueado por la administración de 1-aminopiridina ya que dicho compuesto estimula la liberación dependiente de calcio de neurotransmisores (Kita et al., 1981; Tepic, 1985).

4.- LA CONDUCTA DE GIRO.

En la gran mayoría de los casos de que se han reportado que alteran a nivel sintáptico como el efecto de sustancias agónicas o antagonistas de neurotransmisores pueden inducir un efecto a nivel conductual. De esta manera, el poder relacionar circuitos bioquímicos con un fenómeno medible conductualmente es de suma importancia para la investigación en las neurociencias.

Esta serie de efectos en el estudio de compuestos que actúan a nivel sintáptico como el caso de nifedipina, la 3-aminopiridina y el tetrodotoxina, para inducir una conducta motora conocida como conducta de giro.

La conducta de giro es definida como un movimiento activo de un animal con dirección circular en respuesta a la alteración unilateral de la fisiología de una región determinada. La conducta de giro está caracterizada por un giro de un diámetro menor que la longitud del animal y con su cola hacia el lado del giro; en algunos casos el animal puede girar usando solamente como pivote a las patas traseras (Pycock, 1980).

Los primeros reportes de la conducta de giro fueron los estudios de Farrier en 1877, en los que reportó que la estimulación unilateral del cuerpo estriado del perro, causaba una alteración postural que se caracterizaba en que la cabeza describiendo un círculo se acercaba a la cola.

El sentido del giro está dado en relación con el lado del cerebro que está siendo estimulado, lesionado eléctrica o químicamente o por ablación de una región específica. La mayoría de los autores utilizan los términos contraversivo o contralateral

al referirse al movimiento circular dirigido el lado opuesto del sitio de experimentación, y los términos ipsiversivo o ipsilateral cuando el movimiento es hacia el mismo lado del sitio de experimentación (Pavlov, 1900).

4.1- Estructuras cerebrales relacionadas con la conducta de giro.

Muchas adscripciones actuales de la conducta de giro están basadas en un desbalance de la excitación del receptor de dopamina cerebral, se aceptan de manera general que es el núcleo caudado el principal responsable de esta actividad motora. Las vías aferentes a través de las cuales el cuerpo estriado (núcleo caudado más el núcleo putamen) modula la conducta de giro son de manera general desconocidas. Sin embargo, las más aceptadas son al globo pálido y a la sustancia negra. Las rutas aferentes del cuerpo estriado que al parecer están relacionadas con la conducta de giro son mostradas en la figura 7.

Cuerpo Estriado (Núcleo Caudado y Putamen)

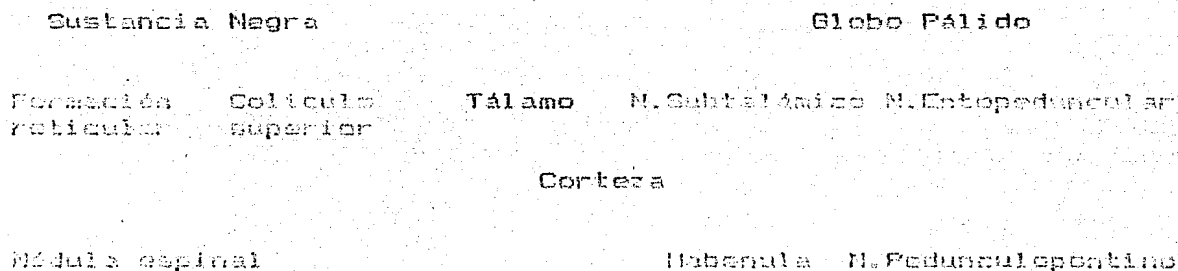


Fig. 7 Rutas aferentes del cuerpo estriado que están relacionadas con la conducta de giro (Pavlov, 1900).

Como ya se ha mencionado, la conducta de giro puede ser producida en respuesta a la alteración unilateral de la finitividad de una región determinada. Dicha alteración puede ser producida de diversas maneras:

1. Por estimulación eléctrica,
2. Por lesión eléctrica o ablación y
3. Por estimulación farmacológica.

La conducta de giro no sólo depende de la región del cerebro que se daña o afecta, sino también de la posición exacta dentro del núcleo, por lo que no es sorprendente que los resultados reportados hasta algunas veces sean contradictorios.

1. Conducta de giro inducida por estimulación eléctrica.

Muchas evidencias iniciales fueron enfocadas al papel que desempeñan algunas células mesencefálicas en el control de la postura. De esta manera, la estimulación de las siguientes regiones induce la conducta de giro:

Conducta de giro en sentido ipsilateral

- Tegmentum mesencefálico,
- Substancia negra,
- Núcleo medial teléntico,
- Formación reticular mesencefálica,
- Núcleo rojo y
- Núcleo amigdalino.

Conducta de giro en sentido contralateral

- Núcleo rojo,
- Tegmentum ventrodorsal,
- Substancia negra
- Núcleo caudado,
- H. entopeduncular,
- Glia glia,
- H. anterior teléntico,
- Hipocampo y
- N. amigdalino.

2.- Conducta de giro producida por lesión electrofísica o ablación.

De manera general, se ha observado que la lesión electrofísica o de ablación produce una conducta de giro en sentido opuesto al producido por la estimulación eléctrica. Las regiones estudiadas de esta forma que producen la conducta de giro son las siguientes:

Conducta de giro en sentido ipsilateral

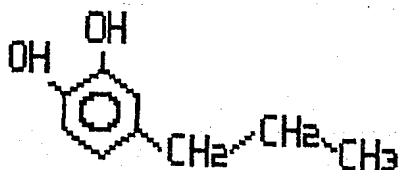
- M. caudado (ablación),
- Globo pálido (electroablación),
- M. entopeduncular (electroablación),
- Sustancia negra (ablación) y
- Tegmento mesencefálico mesencefálico (electroablación).

3.- Conducta de giro producida por manipulación farmacológica.

Teniendo en cuenta que el efecto es producido, de manera general por todo aquel compuesto capaz de alterar los mecanismos de neurotransmisión, ya sea por agonismo, por antagonismo de los neurotransmisores involucrados en las regiones estudiadas, o de alterar las rutas metabólicas que se siguen para sintetizar el neurotransmisor y la neurona en general, o de modificar los mecanismos que regulan la liberación del neurotransmisor, es claro que un gran número de drogas pueden producir conductas de giro. En la sección siguiente mencionaremos algunas.

4.2.- Neurotransmisores y la conducta de giro

Dopamina.



DOFAMINA

Experimentalmente es posible producir la destrucción de neuronas dopaminérgicas por acción de la neurotoxina 6-hidroxidopamina (6-OHDA), la cual administrada estereotáxicamente (Ungerstedt, 1968), produce una destrucción específica de las neuronas dopaminérgicas, y por ende una disminución de la transmisión dopaminérgica. Después de la inyección de 6-OHDA en la vía nigroestriatal, las ratas manifiestan una conducta de giro ipsilateral, conducta que pronto desaparece, cuando los animales de experimentación "aprenden" a compensar el efecto de la lesión. Sin embargo, esta conducta puede presentarse en sentido contralateral dos semanas después de la inyección como respuesta a un estímulo estresante. La explicación a dicha conducta paradójica no ha sido aún explicada.

Cuando se aplican, a ratas con lesión por 6-OHDA, sustancias relacionadas farmacológicamente con la dopamina se pueden encontrar los resultados mostrados en la tabla 4.

Tabla 4.- Conducta de giro inducida por la administración intranigral de compuestos relacionados farmacológicamente con la dopamina en animales que recibieron una administración intranigral de 6 OH-DA.

Drugs	Sentido
Anfetamina	Ipsilateral
Apomorfina	Contralateral
L-DOFA	"
Bromocriptina	"
LSD	"
Piribedil	"
ADTN	"
Ergocornina	"
Ergometrina	"
Lergotrila	"
Lisurida	"
Nomifensina	Ipsilateral
Mazindol	"
Fenciclidina	"
Amantidina	"

Tomado de Fycock, 1980.

Quando se aplican intraperitonealmente sustancias relacionadas farmacológicamente con dopamina a roedores, a los que se les ha practicado una ablación ó electrolesión unilateral del cuerpo estriado ó la sustancia negra, se han encontrado los resultados en la conducta motora que son mostrados en la tabla 5.

Tabla 5.- Conducta de giro inducida por la administración intra-peritoneal de compuestos relacionados farmacológicamente con dopamina en animales que fueron lesionados por ablación o electrolesión.

Droga	Sitio de lesión	Sentido de rotación
Anfetamina	Estriado	
	Estriado	Ipsilateral
	S. negra	Ipsilateral
		Contralateral
L-DOPA	Estriado	Ipsilateral
	S. negra	Ipsilateral
Reserpina	Estriado	Contralateral
Bromocriptina	S. negra	Contralateral
Neurolepticos	Estriado	Contralateral
	S. negra	Contralateral
Fenciclidina	S. negra	Ipsilateral
Amantadina	S. negra	Ipsilateral
Nomifensina	S. negra	Ipsilateral
ET495	Estriado	Ipsilateral
	S. negra	Ipsilateral

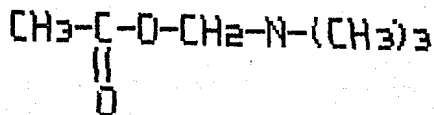
Tomado de Pycock, 1980.

También se han probado el efecto sobre la conducta motora producido por inyecciones unilaterales intraestriatales de algunas drogas dopaminérgicas. En estos experimentos se ha observado de manera general, que los facilitadores de la transmisión dopaminérgica (agonistas) inducen conducta de giro en sentido contralateral, y los inhibidores de ésta, inducen la conducta en sentido ipsilateral (Pycock, 1980).

Estudios de las conexiones de la sustancia negra sugieren que la conducta es resultante de los cambios en la actividad del

sistema estriatal dopaminérgico por una vía que parte del estriado a la sustancia nigra, y de ésta al tálamo (García-Muñoz *et al.*, 1983; Patiño y García-Muñoz, 1985).

Acetilcolina.



ACETILCOLINA

Los primeros estudios realizados con acetilcolina se remontan a los estudios de Freedman y Himwich en 1949, y White en 1956, quienes inyectaron diisopropil fluorofosfato en la arteria carótida común, o al núcleo caudado de conejo, encontraron una conducta de giro con sentido contralateral, y debida probablemente una disminución de la actividad de la acetilcolinesterasa.

Se ha encontrado acetilcolina en algunas regiones que se relacionan con la conducta de giro, como el estriado y la sustancia nigra. A partir de este hallazgo, se ha postulado una relación entre dopamina y acetilcolina para el control de la conducta de motor (Lehman y Langer, 1983; De Montis *et al.*, 1979; James y Massey, 1978; Sandberg *et al.*, 1984; Pycock *et al.*, 1978; y Pycock, 1980).

Se realizaron experimentos en los que se inyectaron agonistas y antagonistas de acetilcolina a ratas con una previa destrucción de la vía dopaminérgica nigro-estriatal (Pycock, 1980), así como la inyección de dichas drogas en diferentes sitios de los ganglios basales de diferentes especies (Tabla 6).

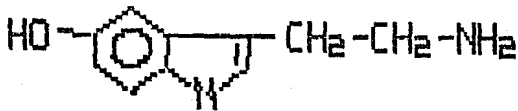
Tabla 2. Conducta de giro inducida por la administración intravital de agonistas o antagonistas de acetilcolina en varias especies de experimentación.

Especie	Especie	Druga	Dirección de la respuesta rotatoria
Ratón caudado	Rata	Aracolina	Ipsilateral
		Demetilpirina	"
		Carbacol	Contralateral
		Atropina	"
		(±) Tubocurarina	"
		DTF	"
Gato	Gato	Carbacol	"
		"	"
		"	"
Gato peludo	Rata	Atropina	Ipsilateral
		Aracolina	Ipsilateral
		Carbacol	"
		Atropina	"
		Emoprolamina	Contralateral
		Hemicolinio	"
Gato	Gato	Carbacol	Ipsilateral
		"	Ipsilateral
		"	Ipsilateral
Gato peludo	Rata	Aracolina	Ipsilateral
		Atropina	Contralateral

Tomado de Pycock, 1969.

A partir de los estudios en los ratones los druggs fueron administrados a los gatos y se observó que los druggs produjeron respuestas similares de conductas de giro en ratones. Los resultados de la dependencia de algunas especies, indican que los agonistas administrados a los ratones (Pycock, et al. 1977; Pycock, 1969).

Serotonina:

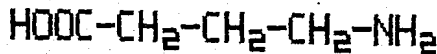


5-HIDROXI-TRIPTOFANO

5-AMINOTRIPTOFANO

efectos excitatoria de la serotonina en las células de Purkinje (Ch'Almudi et al. 1977). Además de que en la sustancia negra existe en una de las mayores concentraciones de serotonina registrada en el cerebro.

Acido Gama Amino-Butírico (GABA).



GABA

Así mismo se ha probado una larga serie de agonistas de sistema GABAérgico como el muscimol, clonidina oxi sulfato y ácido imidazol acético, y en la mayoría de los casos se ha reportado la inducción de giro contralateral (Scheel-Krüger et al. 1977, 1981; Olpe et al. 1977; Trevill et al. 1978; Martín et al. 1979; Sisco, 1980), producido por la administración intranigral de estos compuestos como era de

apareceren. Muestra que la inyección de antagonistas de GABA produce giro ipsilateral. (Seavill et al, 1979; School-Kedger et al, 1977; 1981; Olpe et al, 1977; Fyock, 1980). Sin embargo, los resultados obtenidos a partir de las experiencias realizadas en la sustancia negra muestran contradicciones, las que se pueden deber a las diferencias en el sitio exacto de inyección (Seavill et al, 1979; Jones y Collingridge, 1979 y Kilpatrick y Starr, 1981).

La concentración de GABA en el cerebro de 700 a 1000 veces la concentración de dopamina, norpropiladrina, acetilcolina o serotonina. Se encuentra ampliamente distribuido en el sistema nervioso central y se concentra específicamente para éste. La mayor concentración de GABA ha sido encontrada en la sustancia negra como puede verse en la tabla 7.

Tabla 7.- Distribución de GABA en el cerebro de los mamíferos.

Región cerebral	GABA (nmol/g peso húmedo)		
	Homo	Conejo	Rata
Sustancia negra	9.70	9.50	10.07
Globo pálido	8.54	6.43	7.63
Hipotalamo	4.19	5.33	7.49
Tubérculos cuadrigéminos inferiores	4.70	3.04	5.06
Núcleo dentado	4.30	4.00	—
T. f. supiorca	3.12	4.33	7.47
Núcleo subpretectal	—	4.52	—
Pituitaria	3.42	3.49	3.52
Tegmento pontino	3.34	1.23	3.34
Núcleo caudado	3.20	3.43	3.59
Hipocampo	—	3.32	3.50
Corteza neocórtex	2.68	—	—
Tegmento midular	2.37	2.74	3.11
Corteza frontal	2.16	2.10	2.06
Corteza motora	2.06	—	—
Corteza parietal	2.03	1.60	3.01

Tomado de Denilia, 1985.

También ha sido demostrada la producción de GABA en otras vías relacionadas con la conducta de giro, como la vía nigroestriatal (nucleo subtalámico superior), a través de la vía nigroestriatal (Wise y cols. 1978); en la vía nigroestriatal inferior (nucleo subtalámico inferior) (Mandel y cols. 1981; Gao y cols. 1983; Zaino y cols. 1984; Chevalier y cols. 1988); y en el núcleo caudado de giro (Mandel y cols. 1983).

Aparte de los neurotransmisores antes mencionados, también se ha reportado que algunas piperilinas como la piperilina 2 (Diplo and Wallis, 1977; Jones and Starr, 1979); la morfina, las anfetaminas (Harrison-Marschall y cols. 1984) inducen la conducta de giro (Diplo, 1980).

5.-LA SUSTANCIA NEGRA.

En la sección anterior se ha descrito que uno de los sitios clave relacionados con la conducta de giro es la sustancia negra. En esta sección se revisará con algún detalle esta estructura.

La sustancia negra es el núcleo de mayor tamaño del mesencéfalo. Debido a su estrecha relación funcional y anatómica con los núcleos del sistema extrapiramidal, ha sido considerada como un núcleo de los ganglios basales (Nauta and Domesick, 1984; Mandel, 1983).

Tiene la función de regular la actividad estriatal, a través del circuito estriatonigral, que en su vía descendente, la estriatonigral, y mediante la acción de GABA, media los efectos funcio-

los disparados por la estimulación de receptores de dopamina en el estriado. Y su vía ascendente, la nigroestriatal mediante la acción de la dopamina inhibe la actividad estriatal (Schultz y Gasser, 1991). Así mismo, se ha postulado como un núcleo intermedio para la proyección estriatal hacia el tálamo y el núcleo.

La sustancia negra se localiza en el mesencefalo, en posición dorsal al surco horizontal y ventrolateral al lemnisco medio, está bordeada por el área tegmental ventral. Se divide en tres regiones principales: la pars reticulada (SNr), en que la mayor parte está constituida por un neuropilo, que recibe un axón de la fibra de Golgi, posee una red de pequeñas fibras que forman una red de fibras longitudinales y transversales. La segunda es la pars compacta (SNc), la cual forma una delgada capa de células en posición dorsomedial a la pars reticulada y ventrolateral al lemnisco medio; estas neuronas se caracterizan por presentar células pigmentadas oscuras, debido a la neuroleucina que en su mayoría almacenan en sus lisosomas. Algunas autoras proponen que la SNc forma un continuo con el área tegmental ventral, y en su mayor parte las neuronas de estas regiones poseen morfología y conexiones similares, principalmente al estriado. La tercera región está constituida por la pars lateral (SNl), una región elíptica ubicada lateral al tallo mesencefalo y ventrolateral al lemnisco medio y ventrolateral al área tegmental ventral (Kandel, 1995).

La sustancia negra recibe aferencias principalmente de las siguientes estructuras:

Substancia negra. A través de la vía subestriada ipsilateral, cuya neurona GABAérgica proyecta desde la cabeza y cola del núcleo putámen. También se ha reportado la presencia de dopamina en el núcleo accumbens (Mandel, 1981; Bonner et al., 1983; Carlson et al., 1983; Kozel et al., 1983).

Globo pálido. A través de la vía pedunculada ipsilateral, que se origina en el segmento externo del globo pálido. Se sabe que está mediada por el neurotransmisor GABA (Carlson et al., 1983; Mandel, 1983; Bonilla, 1983).

SNr. A partir de una vía ipsilateral del núcleo accumbens. Se sabe que esta vía es serotoninérgica y además que la concentración de serotonina en SNr es de las mayores en el cerebro (Palkovits et al., 1974; Day et al., 1976; Carlson et al., 1983).

SNc. Esta vía es aún controvertida, sólo se supone en ratones y monos, y se origina de la corteza frontal ipsilateral (Carlson et al., 1983; Nauta and Domesick, 1984).

SNr, SNc, núcleo lateral, núcleo subtalámico y de diversos núcleos talámicos.

La sustancia negra proyecta sus aferencias principalmente a:

Galvánica. A través de una vía dopaminérgica que se origina principalmente de neuronas localizadas en la SNc y en la región ventral de la SN. (Paul y Mehler, 1979).

Tálamo. A través de una vía GABAérgica que se origina principalmente en la región ventral de la SNc, que llega principalmente al núcleo ventrolateral talámico e intralímbico. (Kilpatrick et al, 1981; Deniau y Chevaleyre, 1981).

Substancia subfúndica. A través de una vía GABAérgica que se origina principalmente en la región ventrolateral adosada al área substancial (Vinciguerra et al, 1978; Di Chiara et al, 1980; Melis y Gale, 1982; Chevaleyre et al (1984).

También han sido postuladas otras vías, entre las que están, el globo pálido, núcleo parafuncicular del tálamo, núcleo subfúndico, la formación reticular posterior y ascendente, área gris central y la periacueductal. (Paul y Mehler, 1979; Grafova, et al, 1982; Savier et al, 1982; Deniau, et al, 1982).

Paul y Mehler (1979) han observado que existe una compartimentación de la sustancia negra reticulada, en lo que se ha denominado subnúcleo, que serían los siguientes y que de manera esquemática son presentados en la figura 8.

- NT Subnúcleo de neuronas de proyección talámica o zona nigro-talámica.
- NC Subnúcleo de neuronas de proyección colinérgica o zona nigro colinérgica.
- NE Subnúcleo de neuronas de proyección estriatal o zona nigro estriatal.

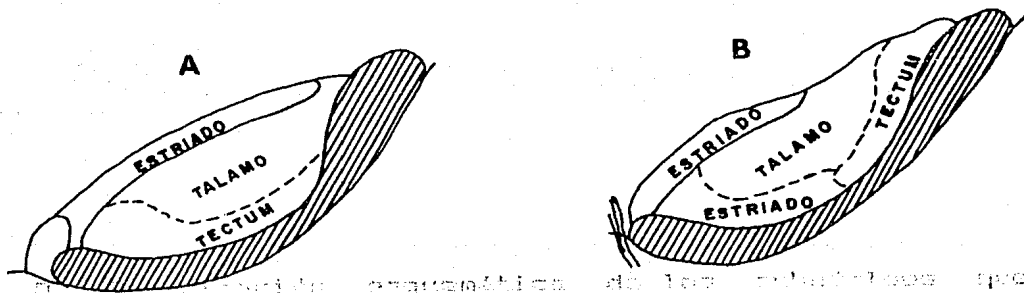


Fig. 11. Organización esquemática de las substancias que componen la sustancia negra en un corte coronal medial de la tala cerebral caudal (según Gauli y Mohler, 1970).

En cuanto a las vías nigra talámico y nigra tectular, se ha observado que algunas terminales pueden originarse a partir de la misma neurona, dando colaterales foráneas dentro de la SN (Gauli y Mohler, 1970; Fontana, et al., 1970; Deniau et al., 1972).

Citología de la sustancia negra.

Tres clases generales de células pueden ser distinguidas en la SN con base en el tamaño de cuerpo celular, grosor de las dendritas y ramificación de éstas. Sin embargo, existen ocasiones en que las células son semejantes en la disposición de sus dendritas y sólo varían en tamaño.

Los tres tipos celulares que pueden ser observados dentro de la SN son los siguientes:

Neuronas grandes y medianas que miden de 45-74 μ m y 16-44 μ m en sus ejes mayor y menor respectivamente. La forma del cuerpo celular varía ampliamente, pudiendo ser fusiformes, triangulares, poligonales,

nales o ovoides (Juraska et al, 1977).

Hay unas pocas que miden de 11-26 μ m caracterizada por sus finas dendritas que radican en todas direcciones.

Para revisar la citología de la GH, la dividiremos en las tres partes principales: GH, GHa y GHb.

La sustancia gris reticulada presenta los tres tipos celulares mencionados. Las células grandes y medianas difieren sólo en tamaño, por lo que son reportadas como un solo tipo, que constituye el 71 % de las neuronas examinadas (Juraska et al, 1977).

Las dendritas de las células grandes y medianas, que pueden localizarse en la región medio-lateral, tienden a dirigirse al cruz cerebral, éstas se ramifican y quedan sus ramificaciones paralelas al cruz cerebral. En la región basal se ha observado otro tipo de neurona mediana-grande, la cual tiene un campo dendrítico que se extiende longitudinalmente paralelo al cruz cerebral. La organización anterior le da un aspecto de laminación a la GH. Las dendritas de la parte reticulada no tienden a abandonar la región; sin embargo, las células cercanas a la parte compacta o a la parte lateral pueden tener un campo dendrítico en ambas regiones, pero no cubren grandes distancias a través de éstas (Juraska et al, 1977).

Los axones de las células grandes y medianas de la parte reticulada se originan del núcleo dorsal de una dendrita primaria, y aunque algunas no se ramifican, la mayoría presenta colaterales que se originan entre las D y G1 en particular del punto de origen del axón (Juraska et al, 1977). En un estudio

reciente se observó que los axones de células reticulares del gaba pueden posiblemente hacer conexiones autópticas (Marabales y Farquhar, 1986).

Se ha establecido que las neuronas medianas son las que proyectan hacia el tálamo y/o hacia el colículo superior a través de axones colaterales que se originan en foros tipo colaterales (Juraska et al. 1977; Bentivoglio et al. 1979).

Cabe el 28% de las células está representado por las neuronas pequeñas con axones dendríticos de forma arborescente, consistentes en 3 a 5 dendritas delgadas que generalmente se ramifican 1 a 2 veces, y están restringidas a la parte reticulada; son semejantes a las pequeñas presentadas en la parte compacta (Juraska et al. 1977).

Las neuronas de la parte compacta son principalmente de medio tamaño. Son semejantes a las que se presentan en la SNr y SNc, pero pueden ser reconocidas por su patrón dendrítico característico, y que consiste en que cada neurona tiene 1 a 3 dendritas que profunden dentro de la SNr donde se ramifican una o dos veces; estas dendritas corren paralelas a las dendritas de la SNr, y muestran variaciones. Las dendritas que llegan a la SNr desde la porción caudal o rostral de la SNc se orientan en dirección rostro-caudal, mientras que las neuronas centrales de la SNc se orientan en dirección dorso-lateral (Juraska et al. 1977).

Las neuronas pequeñas son menos frecuentemente encontradas, ya que han reportado un 10% de la población observada (Juraska et al. 1977). Son semejantes a las mencionadas en la parte reticulada.

En la GNI se pueden encontrar los tres tipos celulares antes mencionados. Las células grandes y medianas que difieren sólo en tamaño, frecuentemente proyectan sus dendritas dentro de parte reticulada donde corren paralelas a la capa peripoduncular. Los axones de las grandes y medianas muestran una orientación inicialmente dorsal y/o medial (Juraska et al, 1977).

OBJETIVOS DE LA TESIS

Con la información revisada de los mecanismos sinápticos, así como los conocimientos básicos de la conducta de giro y de la sustancia negra, se plantearon los experimentos de esta tesis con el objetivo de conocer la relación existente entre la acción del ión calcio y los mecanismos de liberación de un neurotransmisor (GABA) de la sustancia negra en su relación con la conducta de giro.

Los experimentos consistieron en la administración estereotáxica intranigral y unilateral de el rojo de rotónia, un agente bloqueador del transporte de calcio y de 4-aminopiridina un agente activador del movimiento de dicho ión calcio en la terminal sináptica; que resultará en una disminución y un aumento respectivamente, de la liberación dependiente de calcio del neurotransmisor. Y debido a que en la sustancia negra, el neurotransmisor GABA está más concentrado que en otras regiones del cerebro; se espera una disminución o aumento de la liberación de este transmisor, en respuesta a la manipulación del flujo de calcio, y se manifestará como una asimetría funcional de la sustancia negra, que se traduce en una alteración conductual conocida como conducta de giro. El sentido del giro será definido dependiendo de la acción sobre las vías existentes en dicho núcleo, y específicamente sobre la vía GABAérgica.

METODOLOGIA.

Para el trabajo experimental de esta tesis se utilizaron ratas adultas machos de la cepa Wistar, con un peso de 180-200g, los cuales fueron sometidos en dos fases; la primera consistió en introducir a la rata en un estado anestésico profundo, que se logró al introducir al animal en una cámara saturada con vapor de halotano a una concentración del 3% de una mezcla de oxígeno y bixido de carbono (al 20 y 5% respectivamente), por un tiempo aproximado de 5 minutos, que podía variar dependiendo de la sensibilidad de cada individuo. Una vez que la rata se encontraba en dicho estado anestésico (caracterizado por una flaccidez total y un ritmo respiratorio lento y constante), se procedió con la siguiente fase, la cual consistió en montar al animal en el aparato estereotáxico, que se modificó colocándole una manguera y una mascarilla en el fijador mandibular. Por medio de la manguera al halotano llegaba a la mascarilla una concentración del 1.5% en la mezcla ya mencionada (Fig. 7). Una vez fija la cabeza en el aparato estereotáxico, se realizó una tricotomía de la región superior de la cabeza y se efectuó una incisión de aproximadamente 1.5 cm en esta región en una dirección rostrocaudal (Fig. 8). Una vez expuesto el cráneo que liberó del periosteo y ya limpias las suturas del conjuntivo adnado a éstas se determinó con la ayuda de un lápiz tinto para resaltar las suturas, la

posición en la coordenada tridimensional del bregma (anteroposterior, lateral y vertical). El bregma está definido por el punto de intersección de las suturas biparietal y la parieto-frontal. Dicha coordenada se obtenía con ayuda de la torre estereotáctica y las escalas de los brazos del marco estereotáxico.

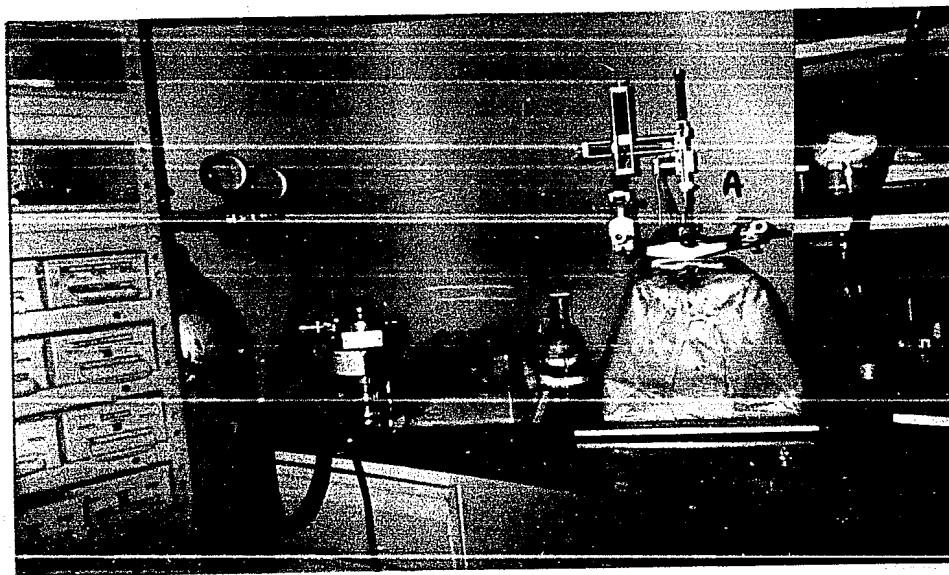


Fig. 9. Aparato estereotáxico con el sistema de vaporización del anestésico. A.- Estereotáxico; B.- Cámara de preanestesia; C.- Vaporizador de Halotano; D.- Colector con glicerina.

Una vez localizada y calculada la coordenada del bregma se utilizó como referencia para las coordenadas de los subnúcleos de la sustancia negra que se inyectaron: para el subnúcleo de proyección nigrotalámica = AP -5.0, L -1.7 y V -7.8; y para el subnúcleo de proyección nigroestriatal = AP -5.6, L -1.6 Y V - 9.0. Una vez conocida la coordenada del área a inyectar, se desplaza la torre hacia las coordenadas anteroposterior y lateral para marcar en la superficie del cráneo, el sitio de penetración

de la aguja de la microjeringa. Este sitio es trepanado con una fresa de odontología adaptada a un motor de mano (evitando lesionar las meninges), el diámetro de la trepanación es de aproximadamente 1.5 mm (Fig. 10).



Fig. 10 Trepanación realizada en la cabeza de la rata por donde bajará la microjeringa.

A través del trepano se baja la microjeringa (de 1 μ l de capacidad) hasta que la punta de la aguja (coordinada vertical) llegue a la región por inyectar. El volumen total de inyección fue de 0.2 μ l y 0.1 μ l para la región nigrotalámica y nigrostriatal respectivamente (Tabla B), que se inyectaron en 2.5 y 5 minutos, después de lo cual se esperó el mismo tiempo antes de extraer la aguja. Se extrajo la jeringa en un lapso de aproximadamente un minuto, y se realizó una limpieza del campo operatorio. Posteriormente se realizó la sutura de la piel con un hilo 3-0. Una vez terminada la sutura, se bajó a 0% la concentración de halotano, la rata es marcada, y se retira del marco estereotáxico para su observación.

Tabla B. Drogas administradas y sus concentraciones.

DRUGA	REGION	
	Nigrotalámica	Nigrocastratal
Volumen de inyección	0.2 ul	0.1 ul
ROJO DE RUTENIO:		
en solución 7mM	1.4 naeolas	0.7 naeolas
1 AMINOPIRIDINA:		
en solución 26 mM	5.2 naeolas	2.6 naeolas
MUREINEL:		
en solución 1.75 mM	350 naeolas	175 naeolas
SOLUCION SALINA:	0.2 ul	0.1 ul

Excepte en el caso del rojo de rutenio, que es colorido, las soluciones contenían 6 mg de azul de pontamina, colorante inerte que permite localizar el sitio de la inyección después de la observación conductual.

Después de realizada la fase quirúrgica, se trasladó a la rata a una tina circular de 45cm de diámetro superior y 25 cm de profundidad, para su posterior observación y filmación en video-

cinfa da la conducta resultante, lo cual se inició a los 10 minutos aproximadamente desde el momento del desamnte (lapso requerido para la recuperación del estado anestésico). El tiempo de observación fue de 40 min.

Una vez transcurrido el tiempo de observación se sacrificó el animal por decapitación y el encéfalo fue rápidamente extraído y congelado para su posterior verificación histológica del sitio de inyección. La histología se realizó en cortes de 50 micras hechas en un crióstato ó microtomo de congelación, y el sitio se localizó por el color del rojo de pteridio ó por el azul de portsaína.

RESULTADOS.

La figura 11 muestra las dos regiones de la sustancia negra estudiada. Los resultados de la administración de las drogas sobre cada región se describirán por separado.

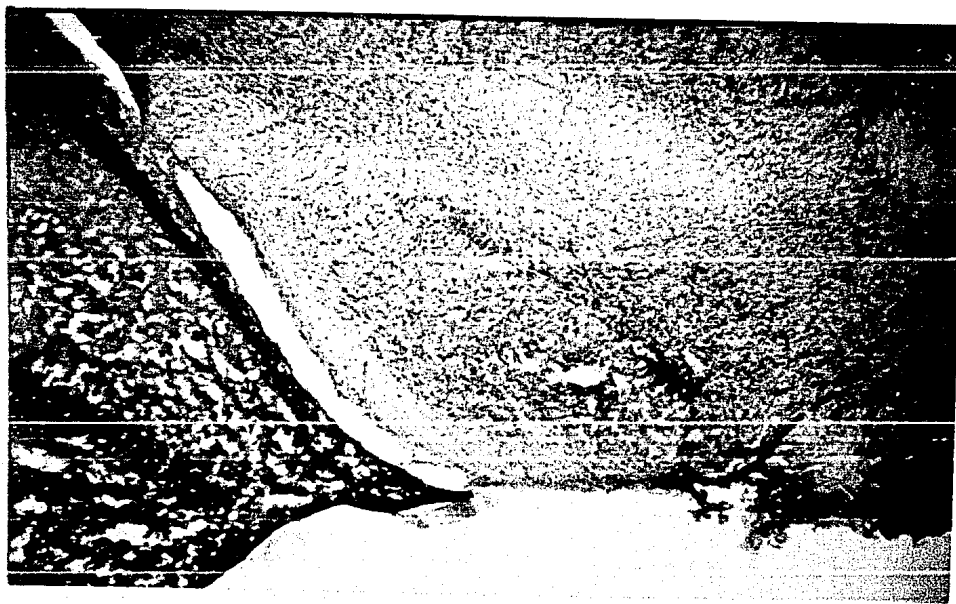


Fig. 11. Micrografía de una sección coronal del cerebro de rata que muestra la sustancia negra y las regiones de proyección nigro-talámica (NT) y nigro-estriatal (NE). Los cortes fueron realizados en fresco en un crióstato y teñidos in vitro con violeta de cresilo. 13 x.

La administración de solución salina (con 5mg de azul de pontamina por mililitro) en las regiones estudiadas no induce ninguna expresión motora significativamente diferente de la observada en ratas sin inyección estereotáxica o con falsa operación. Sólo puede hacerse aparente una conducta de giro ipsilateral en los controles de salina o de falsa operación mediante la administración intraperitoneal de amfetamina a una dosis de 5mg/kg (datos no mostrados).

La histología no reveló ninguna alteración morfológica con respecto a la sustancia negra controlateral no inyectada, de no ser la lesión producida por el trazo de la aguja. No hubo rastros de gliosis ni necrosis celular en las regiones estudiadas durante el tiempo en que se desarrolló el experimento.

En la figura 12 se muestra una micrografía realizada con microscopía óptica de la región de difusión del rojo de rutenio en la sustancia negra; nótese cómo se mantiene la integridad citoarquitectónica de la región.

En la figura 13 se observan células nigrales teñidas *in vivo* con rojo de rutenio al cual tiñe los cuerpos de células principalmente piramidales (fig. 13 A y B). En las inyecciones de muscimol (Msc) y la 4-aminopiridina (4-AP), en las que se utilizó el azul de pontamina como marcador no se observó tinción específica sobre las células nerviosas, debido a que dicho colorante no se fija a las estructuras celulares.

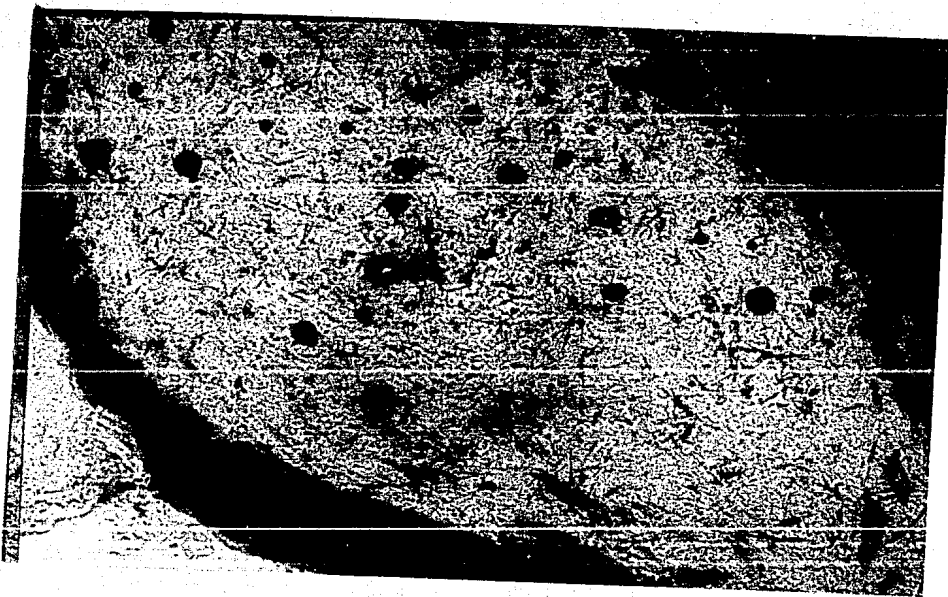
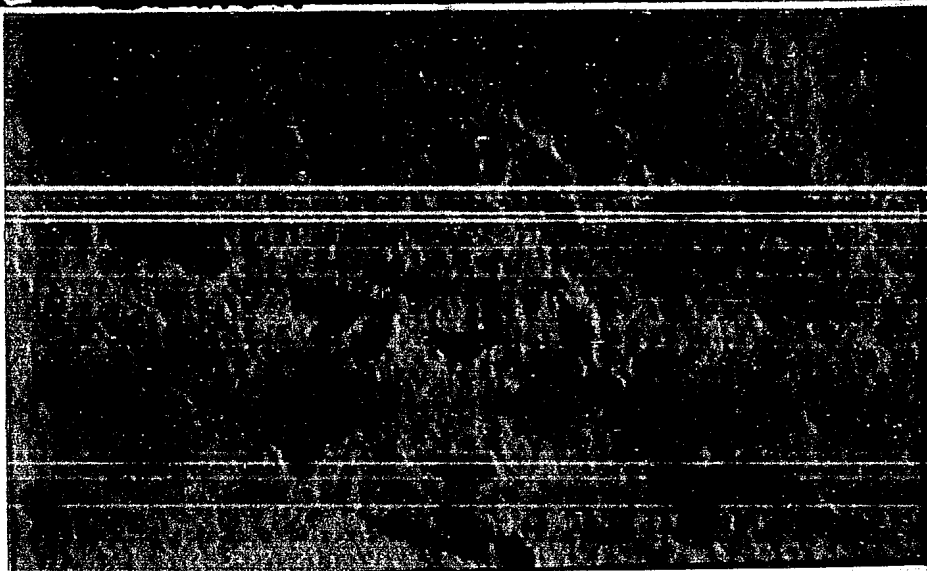
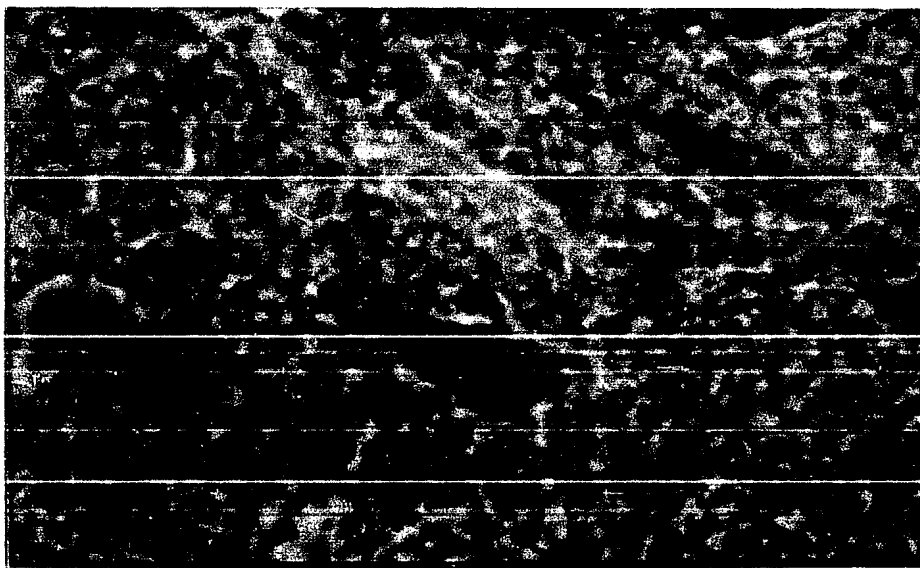


Fig. 12 Micrografía de la sustancia negra en la que se puede observar el halo de difusión formado por la administración intranigral de rojo de rutenio. Corte realizado en fresco en un cristaleto -no fué teñido ni fijado in vitro- 15x.



A



B

Fig. 17. Micrografías de neuronas nigrales después de la inyección de rojo de rubenia in vivo. Los animales se sacrificaron 2 hrs después de la administración y los cortes se obtuvieron en fresco en un criostato. La preparación se fue teñida in vitro. (A) 340x; (B) 360x.

Conducta de giro inducida por la inyección de las drogas estudiadas en la sustancia negra región nigrotalámica.

En la figura 14 se grafica la actividad registrada cada 10 minutos en un lapso de 60 minutos producida por la administración de las drogas estudiadas en la región nigrotalámica (tiempo contado a partir del momento del momento). El rojo de ruténio y el muscimol indujeron una conducta de giro contralateral, con una frecuencia máxima de 4.5 ± 0.1 y 19.5 ± 0.5 (promedio \pm error estándar) giros por minuto a los 50 y 40 minutos respectivamente (fig. 13). Dicha frecuencia después de llegar al máximo fue mantenida por más de 2 horas. La actividad producida por la administración de la 2-aminopiridina (Fig. 14) también fue giro contralateral, y llegó a una frecuencia máxima del orden de 5.7 ± 0.1 giros por minuto a los 30 minutos de observación, después de lo cual disminuyó hasta casi desaparecer a los 60 min: (1.0 ± 0.1 giro por minuto).

El número de giros totales producidos en 60 minutos de observación (Fig. 15), fue de 295.8 ± 36.8 para el rojo de ruténio, de 197.7 ± 37.8 para la 2-aminopiridina, y de 791.3 ± 136.6 para el muscimol.

REGION NIGRO-TALAMICA

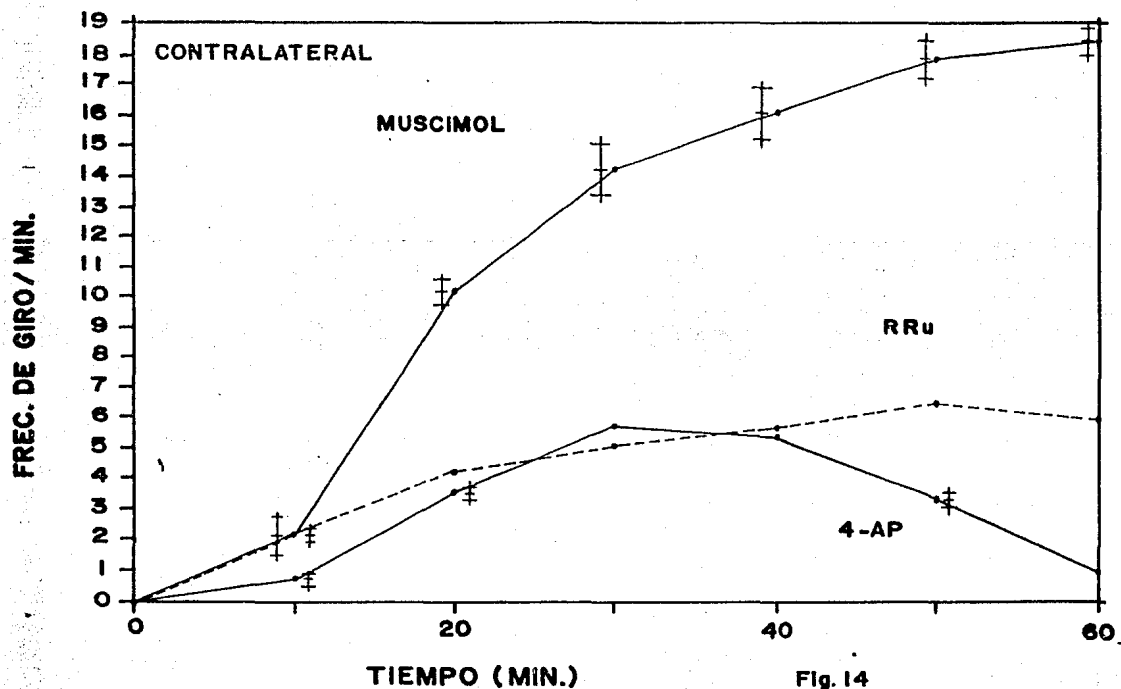


Fig. 14. Frecuencia promedio de giro contralateral por minuto producido por las drogas estudiadas en la región nigrotalámica, y registrada cada 10 minutos en un lapso de 1 hora de observación. RRU, n=10; 4-AP, n=10; y muscimol, n=4. Los valores representan el promedio +/- el error estandar de la media. Véase la Tabla 8 para las dosis.

REGION NIGRO-TALAMICA

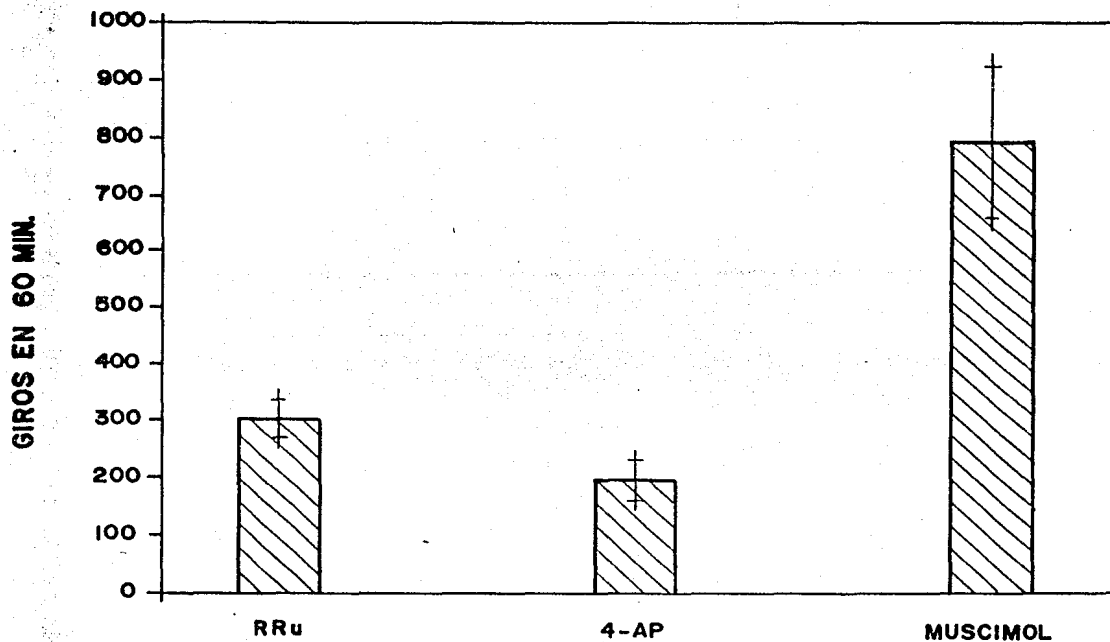


Fig. 15

Fig. 15. Número total de giros contralaterales en 60 min. producidas por las drogas administradas en la región nigrotalámica: RRu, n=10; 4-AP, n=10; y muscimol, n=9. Los valores representan el promedio \pm el error estándar de la media.

Conducta de giro inducida por la inyección de las drogas estudiadas en la sustancia negra región nigroestriatal

La actividad motora inducida por el rojo de ruténio (RRu) administrado en la región nigroestriatal fue diferente de la observada en la región nigrotalámica, ya que en este caso la conducta de giro fue ipsilateral (fig. 16 RRu) y se inició más tardíamente (31.0 ± 14.3 minutos), por lo cual se observaron los máximos durante 20 minutos más. El máximo efecto fue a los 70 min. La 4-AP también produjo giro ipsilateral, mientras que el efecto del muscimol fue opuesto, de giro contralateral. En el caso del muscimol y la 4-aminopiridina (fig. 16 4-AP y muscimol), la actividad motora se inició, al igual que en la región nigrotalámica, a los 10 minutos aproximadamente. La frecuencia máxima de giros producidos por la administración intraneural de rojo de ruténio y muscimol fue de 22.7 ± 0.3 y 12.0 ± 0.3 giros por minuto a los 70 y 60 minutos de observación respectivamente, la cual se mantuvo por más de dos horas. En contraste con la administración de 4-aminopiridina produjo una conducta de giro cuya frecuencia máxima fue de 2.3 ± 0.3 giros por minuto y que desapareció a los 40 minutos de observación.

El número de giros totales en 60 minutos producidos por las drogas administradas en la región nigroestriatal (fig. 17), fue de 670.0 ± 36.9 giros por 60 minutos para el rojo de ruténio de 66.2 ± 3.7 para la 4-aminopiridina y 270.1 ± 66.6 para el muscimol.

REGION NIGRO-ESTRIATAL

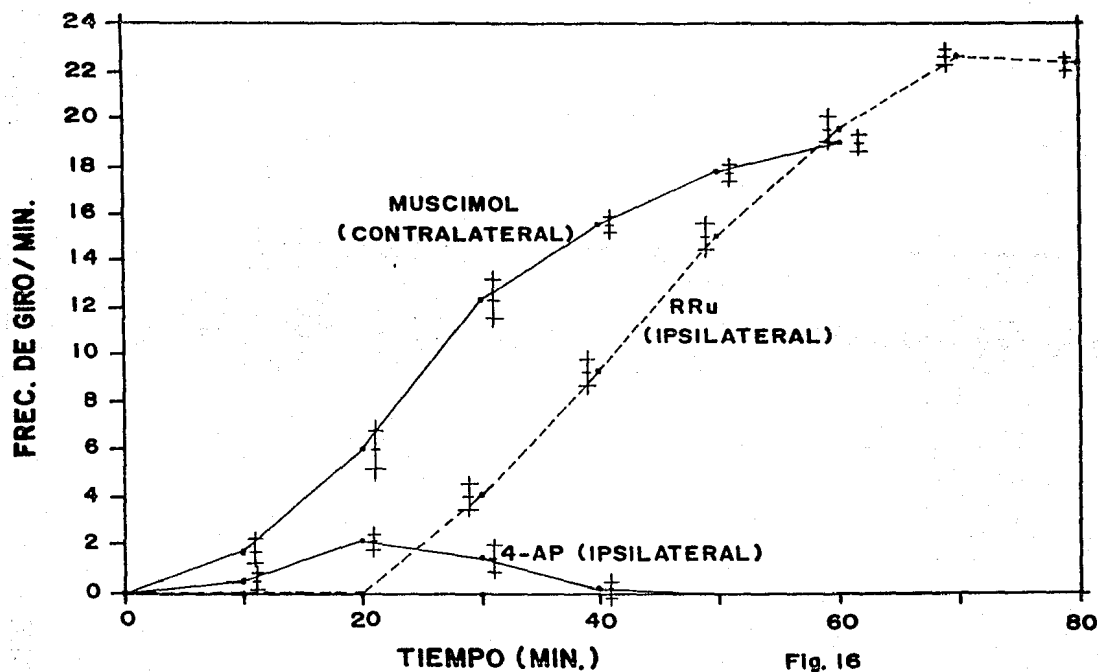


Fig. 16

Fig. 16. Frecuencia promedio por minuto de giro producido por las drogas estudiadas inyectadas en la región nigroestriatal y registrada cada 10 minutos en un lapso de 1 hora de observación. RRu, giro ipsilateral n=9; 4-AP, giro ipsilateral n=7; y muscimol, giro contralateral n=7. Los valores representan el promedio \pm el error estándar de la media. Véase Tabla 6 para los datos.

REGION NIGRO-ESTRIATAL

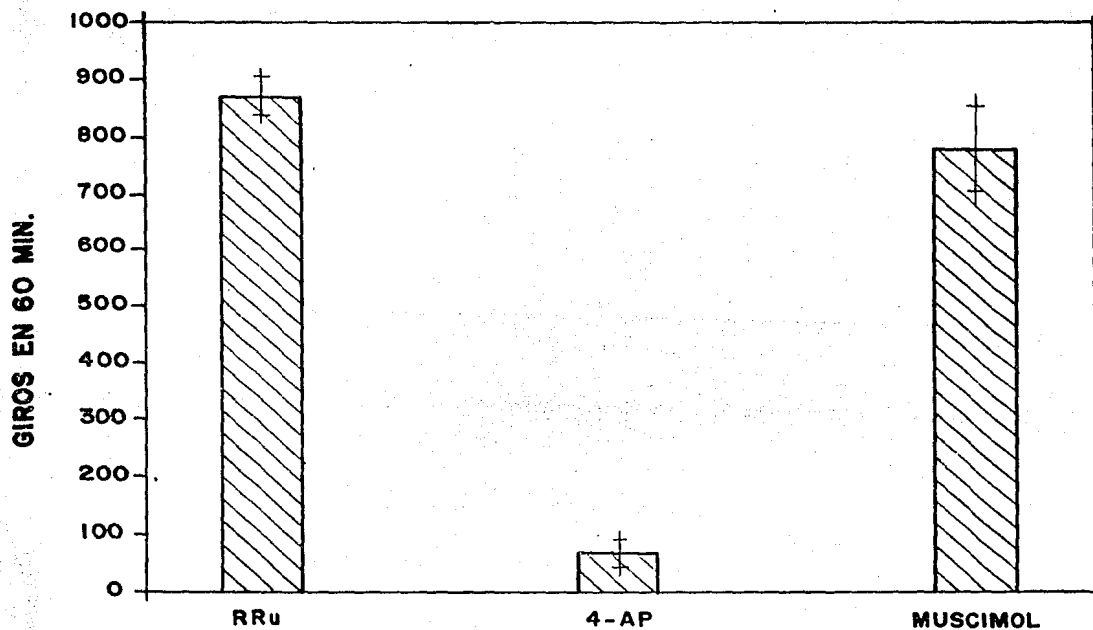


Fig. 17

Fig. 17. Cantidad total de giros en un lapso de 1 hora de observación producidos por las drogas administradas en la región nigroestriatal. RRu, giro ipsilateral a G; 4-AP, giro contralateral a G; muscimol, giro contralateral a G. Los valores representan el promedio \pm la desviación estándar de la media.

DISCUSION

La Región Nigrolalámica:

Trabajos anteriores realizados en el laboratorio donde se desarrolló esta tesis, han demostrado que cuando se administra rojo de ruténio se induce una inhibición del flujo de calcio hacia las terminales sinápticas, que resulta en una disminución de la liberación de dependiente de calcio de neurotransmisores (Tapia and Mora-Ruiz, 1977; Mora-Ruiz and Tapia, 1978). Debido a esto, se esperaba que la administración de este compuesto dentro de la sustancia negra produciría una inhibición de la acción sináptica los neurotransmisores de dicho núcleo. Como el GABA se localiza en dicha zona (Schoel-Krüger, 1981; Garfen et al, 1982; Besson, 1982 y Kamel, 1983), se una alta concentración (Donilla, 1980) se esperaba que este fuera el transmisor más afectado y que por lo tanto los efectos conductuales se pudieran correlacionar con una disminución de su función inhibitoria. De esta manera la conducta de giro resultante sería opuesta a la inducida por el agonista de GABA, el succinil (Schoel-Krüger, 1977; Sips, 1977; Martín, 1979; y Piscock, 1980) y también a la producida por la 4-aminopiridina ya que dicho compuesto potencia la liberación de GABA dependiente de calcio (Tapia and Sips, 1982).

La conducta de giro de sentido contralateral producida por la administración del rojo de ruténio es contradictoria a la

hipótesis planteada, ya que la conducta de giro resultante de la administración de muscimol es en el mismo sentido. También contradice la hipótesis el resultado de la administración de 4-aminopiridina, ya que el giro producido por este compuesto es también contralateral. Sin embargo, este último efecto sí es consecuencia del giro contralateral inducido por el muscimol.

A partir de lo anterior, podríamos explicar la conducta de giro inducida por rojo de rutonio suponiendo que éste actúa en una población neuronal que tiene que estar relacionada sinápticamente con la vía o vías que median la conducta de giro, diferente de la población sobre la que actúan la 4-aminopiridina y el muscimol, esta última incluiría neuronas GABAérgicas si suponemos que el muscimol actúa en la región postsináptica y la 4-aminopiridina en la presináptica de una misma población sináptica. Estos resultados son apoyados por el hecho que el GABA no es el único neurotransmisor existente en la sustancia negra (Dray and Strangman, 1976).

El tiempo que dura el efecto de las drogas estudiadas es variable. Esto se debe probablemente a diferencias entre ellas en cuanto a su eliminación de los sitios donde actúan. En el caso del rojo de rutonio éste es una con gran fuerza a la membrana neuronal y al parecer no existen mecanismos que lo degraden o lo retiren de la región sináptica (Tapia, Arias y Morales, 1980). El muscimol al igual que el RDU parece no tener mecanismos rápidos de eliminación, por lo cual pueda mantener su acción por tiempo mayor después de unirse al receptor de GABA. Sin embargo, aunque no se conoce los mecanismos específicos por los cuales la 4-AP

media en acción, es evidente que un efecto desaparece relativamente pronto, lo que indica que existe un mecanismo de eliminación eficiente, quizá porque, a diferencia del RCB y el Muscimol, no tiene sitios de reconocimiento en la membrana neuronal.

La Región Nigrostriatal:

A diferencia de lo observado en la región nigrotalámica, pero de acuerdo con la hipótesis de trabajo, el rojo de rubenio induce un giro en sentido ipsilateral opuesto al producido por el muscimol. Sin embargo, la 4-aminopiridina que en la región nigrotalámica induce un giro contralateral opuesto al producido por el muscimol, en la región nigrostriatal induce un giro en sentido ipsilateral. De nuevo estos resultados no concuerdan con el modelo planteado, ya que el giro tendría que ser opuesto al inducido por el rojo de rubenio y semejante al del muscimol.

Estos datos no pueden ser replicados del mismo modo que los de la región nigrotalámica, ya que en este caso los efectos del rojo de rubenio y el muscimol son acordes a la hipótesis de trabajo, mientras que los de la 4-aminopiridina no lo son.

Según estos resultados, el rojo de rubenio y el muscimol estarían actuando en una misma población de terminales sinérgicas GABAérgicas, el primero en la región presináptica y el segundo en la postsináptica; la 4-aminopiridina tendría que estar actuando en una población sináptica diferente.

Discusión global.

Las diferencias en la fisiología de las regiones de la sustancia negra estudiadas que se manifiestan por las distintas direcciones en la conducta de giro, producida por los compuestos administrados, concuerdan en general con los hallazgos reportados por Revell y colaboradores (1979), quienes encontraron diferencias en la respuesta a la musclol y a la picrotoxina cuando estas fueron inyectadas en la zona reticulada y en la compacta animal, el estudio realizado con la toxina botánica por James y Collinridge (1979), quienes encontraron diferencias similares en las regiones que ellos definen como rostral y caudal para la región nigroalmeica y nigrostriatal respectivamente. Por otro lado, Kilpatrick y Starr en 1981, realizaron un estudio en el cual dividieron la sustancia negra en 9 fracciones y en las cuales encontraron que el efecto del musclol en la vía dopaminérgica depende del sitio exacto de la inyección dentro de la sustancia negra.

Los resultados reportados en las citas del párrafo anterior son en la mayoría de los casos contradictorios, debido a que mientras que algunos autores revisaron la sustancia negra en las dimensiones mediolateral-dorsoventral (Revell y colaboradores, 1979; Kilpatrick y Starr, 1981), otros (James y Collinridge, 1979) lo estudiaron en sentido rostrocaudal. Es difícil por esto comparar estos datos entre sí. Sin embargo, se queda claro que dentro de la sustancia negra pueden ser encontradas diferencias

en la conducta de giro producida por la administración intrínseca de fármacos en respuesta a la alteración de la fisiología de las sub-regiones estudiadas.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en éste trabajo de tesis, podemos decir que la sustancia negra parte reticulada, la cual presenta tres subnúcleos que son conocidos como las regiones de proyección nigro-talámica, nigro-estriatal y nigro-colicular, y de los cuales en ésta tesis se estudiaron los dos primeros, que al ser alteradas unilateralmente en su fisiología a través de la inyección intranigral de rojo de rutenio, 4-aminopiridina y muscimol, manifestaron diferencias conductas de giro producidas (diferencia consistente en el sentido del giro producido). De este modo, el rojo de rutenio puede producir la conducta de giro contralateral en la nigrotalámica e ipsilateral en la nigro-estriatal; la 4-aminopiridina, puede producir giro contralateral en la nigrotalámica e ipsilateral en la nigroestriatal; y, el muscimol producir giro contralateral en los dos subnúcleos.

También se observó que el modo de acción de las drogas estudiadas es diferente para los dos subnúcleos, ya que si se intenta explicar la conducta de giro resultante de la administración de los tres compuestos, con un modelo para un subnúcleo, no se puede aplicar para explicarla en el otro.

El rojo de rutenio puede presentar una acción diferencial sobre la liberación de GABA. Según ésta tesis, dicho compuesto no actúa sobre la liberación de GABA en la nigrotalámica, pero sí, en la nigroestriatal.

La 4 aminopiridina puede al igual que el rojo de butánis actuar de manera diferente en los metabolismos estudiados. Así, la 4 AP actúa en la vía GABAérgica nigroestriatal pero no en la dopaminérgica.

En conclusión, si bien, no se puede explicar de manera consistente la forma de inducción de la conducta de giro por el rojo de butánis y la 4 aminopiridina, sí logramos obtener una conducta mansueta en respuesta a la administración de amputa. Así que se hizo alterar el flujo de calcio en las terminales nerviosas de un núcleo del sistema nervioso central, y que esta administración in vivo alterara los mecanismos de liberación de neurotransmisores.

Esta tesis puede servir de base para un estudio de la organización sináptica de la región experimental. Así mismo, aplicar los criterios seguidos en ésta, para el estudio de sustancias que alteren el metabolismo neuronal, con parámetros conductuales en esta e en otras zonas del sistema nervioso central que se relacionen con el sistema motor extrapiramidal.

BIBLIOGRAFIA

Akert, P. J., G. Gandri and M. Moor, 1972, "Freeze etching and cytochemistry of vesicles and membrane complexes in synaptotaxins of the central nervous system", in Peppers, G. and D. Peppers, eds. Structure and function of synapses, Raven Press, New York.

Barnett, M. W. L. and P. A. Goodenough, 1972, "Gap junctions, electrotonic coupling and intracellular communication", Neurocytology, Sep. 14, pp. 7-17.

Banti-Aglio M., Derek Walker Keay and H. G. J. M. Kuypers, 1972, "The localization of the afferent projection of the nucleus, his nucleus in the rat. A cytochemical fluorescent double labeling study", Brain Res., 174:1-17.

Barnett, M. W. L., M. L. Frost, C. D. Sharkey and G. J. Wainwright, 1972, "Cytological and chemical changes in the visual cortex of RUTOSA induced by application of acetylcholine in cat caudate nucleus", Brain Res., 241:241-249.

Bonilla, H. R., 1975, "Ester nucleolares de la corteza neocortical", Acta Obit. S. A. Mexico, pp. 341-350.

Bowman, 1972, "Synaptic diversity and stereospecificity by synaptic transmission", in Peppers G. D. and D. Peppers, Structure and function of synapses, Raven Press, New York, pp. 45-65.

Devine, P., C. Graybiel and M. Llinas, 1972, "Enhancement of synaptic transmission changes the synaptic state in rats by electrical stimulation of neocortical grey matter", Brain Res., v 248:213-220.

Frank, 1971, "The role of retinoreceptors in neural processes", Pharmacol. Rev., 6:243-277.

Chevrier G., S. Walker and J. M. Deniau, 1974, "Inhibitory neural influence on hippocampal neurons: a possible implication of basal ganglia in attention behaviour", Exp. Brain Res., v 51:123-134.

Chevrier G., S. Walker, J. M. Deniau and M. Serran, 1975, "Rehabilitation as a basic process in the expression of the neocortex: I. The anatomical influence on hippocampal and basal ganglia neurons", Brain Res., 114:217-224.

Di Chiara, G., M. Nicoletti, A. Imperato and M. L. Porceddu, 1972, "A neurochemical role of the role of dopamine in learning behaviour", Brain Res., 227:21-27.

De Robertis, M. and M. Tassin, 1972, "A secondary role of dopamine: changes in the internal calcium concentration in isolated

neuronal inhibition using the anticholinergic drug succinyl choline".
Neuroscience, 2:1611-1624.

Prinz, J. H., H. Hoffman, H. Kohn and D. Lippman, 1961. "The effect of succinyl choline on the electrical and biochemical activity of the rat brain", *Neuroscience*, 1:109-115.

Prinz, J. H., C. T. Kilai, DeGasperis and T. Grofova, 1963. "Neuronal inhibition in the substantia nigra area following electrical stimulation of the associated nucleus". *Exp. Brain Res.*, 11:109-117.

Prinz, J. H. and D. Chavira, 1965. "Depression of a basic process in the suppression of electrical functions. II. The electrochemical balance on thalamocortical cells of the rat brain". *Neuroscience*, 2:109-117.

Prinz, J. H. and E. R. Hamath, 1967. "On the electrical activity of inhibitory interneurons in the rat brain". *J. Physiol.*, 127:223-234.

Prinz, J. H. and R. W. Stroughair, 1974. "Synaptic mechanisms in the rat substantia nigra". *J. Pharm. Pharmacol.*, 22:100-105.

Prinz, J. H. and M. R. Nalder, 1978. "The cells of origin of descending nigrothalamic and nigrothalamic pathways in the rat". *Neuroscience*, 3:109-117.

Prinz, J. H. and A. I. Medekin, 1977. "The action of calcium on the electrical properties of squid axons". *Neuroscience*, 12:109-117.

Prinz, J. H., P. F. Finkbeiner, A. J. Wright and Arbibach, 1977. "The anatomical substrates of the turning behavior seen after lesions of the nigrothalamic dopamine system". *Neuroscience*, 2:109-117.

Prinz, J. H., M. I. Koppel, R. Somo, A. Chiriac, J. Glowinsky and M. J. DeGasperis, 1963. "Effects of dorsal application of succinyl choline on electrical activity in various rat thalamic nuclei". *Neuroscience*, 12:109-117.

Prinz, J. H., G. Chavira, D. W. Arbibach and H. C. Fibiger, 1962. "Cerebral connections of the rat substantia nigra". *J. Comp. Neurol.*, 207:109-117.

Prinz, J. H., G. Chavira and Kandel, 1965. "Mechanism of electrical activity and inhibition of interneurons". In Kandel, E. R., and James H. Schwartz, "Principles of neural science", Elsevier, 2e Ed., New York, 1965, pp. 109-117.

Prinz, J. H., 1975. "Estructura del sistema nervioso. En *Enciclopedia de fisiología médica*". Interamericana, México, p. 109-117.

Kuffler, W., Stephen and D. J., Nicholls, 1972, "Efectos de los antagonistas de la dopamina y accion", en *En la memoria de un hombre*, Reverte, 1972.

Lindvall, O. and G. T. Lundberg, 1973, "The striatal dopaminergic innervation: histochemical aspect of dopamine decarboxylase", *Neuroscience*, 10, no. 3:1195-1199.

Lund H. and G. Thoenen, 1977, "The mode of action of dopamine decarboxylase and succinate on transmitter release from dopamine terminals", *N. J. Pharmacol.*, 12:411-419.

Lund H., 1978, "Effects of dopaminergic and neuromuscular transmission", *Brain Res.*, 158:307-312.

Lundberg, G.H. and Thomas Melzer, 1983, "Regulation of acetylcholine and classical neurotransmission", *TIINS*, 6:775.

Martin, G. W., H. L. Foy and G. B. Solino, 1978, "Central dopaminergic system: the dopaminergic innervation of accumbens and other structures", *Brain Res.*, 158:297-312.

Martin, R. H. and M. Solis, 1983, "Effect of dopamine agonists on EEG activity in the superior colliculus: Evidence that dorsal lateral EEG activities are under the influence of dopaminergic transmission", *J. Neuro. Exp. Therap.*, 224 no. 3:427-431.

Marzola, G. and R. Yopic, 1970, "Efectos de la dopamina en las condiciones de la dopamina", *Brain Res.*, 151:157-161.

Miledi and Slater, 1966, "The action of dopamine on neuronal processes in the squid", *J. Physiol.*, 123:475-480.

De Meillon, M., Elman, G. G., G. T. Lundberg, and Robert M. Gray, 1978, "Evidence that a dorsal dopaminergic system releases acetylcholine", *European J. Pharmacol.*, 57:181-190.

Muys, H. J. H. and H. G. Swanson, 1984, "Efficient and efficient relationships of the basal ganglia", in *Functions of the basal ganglia*, Ciba Foundation Symposium 107, Pitman, London, pp 17-22.

Olpe, H. R. et al., 1977, "Behavioral behavior induced in mice by application of 6-OH-dopamine to the basal ganglia", *European J. of Pharmacology*, 15:291-293.

Olpe, H. R. and Werner, P. Martin, 1977, "Behavioral effects of the intracerebral application of substance P and an antidote", *Brain Res.*, 122:374-378.

Talbot, H., M. Bronstein and J. M. Gonzalez, 1974, "Dopamine control of the brain stem nuclei in the rat", *Brain*

Foppers, C., and Stephen Maxson, 1970, "Synaptic fine structure and neurochemical and neurophysiological characteristics". In Foppers and Maxson (eds), *Brain Tumor*, New York, pp. 1-17.

Ratini, R. and H. Gerald Meyer, 1965, "Electroencephalographic studies conducted by decreasing synaptic transmission late in the animal". *Brain Res.*, 10:1-10.

Reid, C., D. Terry and C. D. Harnden, 1970, "The effects of administration of thalamocortical pathways on human behavior in cases with unilateral lesions of the nigrostriatal dopaminergic system". *J. Neurophysiol.*, 12:177-187.

Reid, C. J., 1960, "Human behavior in animals". *Neuroscience*, 1:141-151.

Reid, C. J., 1970, "Cell transmission systems and the human thalamocortical pathways". *Science*, 170:393-412.

Reid, C. J., P. Jenner, H. Leigh and C. D. Harnden, 1977, "Human behavior induced by injection of amphetamine into the substantia nigra". *Neuroscience Lett.*, 15:103-107.

Reid, C. J. and J. L. Barker, 1967, "Effects of 2,3-dihydroxy-6-nitrophenolamine hydrochloride and salivary amylase under various stress in animal models". *Brain Res.*, 10:100-107.

Reid, C. J., 1967, "Calmness and aggression in animals". *Science*, New York, 157, 47-49.

Reid, C. J., P. B. Sandberg and J. T. Coyle, 1964, "Effects of bilateral lesions of the nigrostriatal dopaminergic system on spontaneous behavioral responses in the rat". *Brain Res.*, 7:371-382.

Reid, C. J., C. Aquino and J. L. Coyle, 1965, "Serotonin dependent, salivary dependent hemagglutination from amphetamine". *Neuroscience Lett.*, 11:271-277.

Reid, C. J. & E. Lee, 1967, "Effects of amphetamine on the nigrostriatal pathway". In *Neurochemistry*, H. and H. Orskov, eds, Wiley, London, 12-27.

Reid, C. J., J. L. Barker and E. Magelund, 1967, "Behavioral and physiological effects of amphetamine and other GABA antagonists injected into the substantia nigra". *Neuroscience Lett.*, 1:171-176.

Reid, C. J., E. Magelund and H. G. Olsner, 1964, "The role of GABA in the striatal output system. Effects of lesions of the nigrostriatal pathway on the striatal output system. Effects of lesions of the nigrostriatal pathway on the striatal output system". *Neuroscience Lett.*, 1:171-176.

1970, "Calcium and the Brain", Plenum, New York.

Shimizu, T. H. 1969, "Molecular aspects of postsynaptic inhibition", in Principles of neural science, Kandel, E. ed. J. H. Schwartz edn, Elsevier, New York, pp 137-143.

Shin, C. S. 1972, "Calcium accumulation", Exp. Cell Res. (Supplement) 7:77-105.

Shynowich, 1971, "Calcium channel", Ann. Rev. Neurosci., 4:101-107.

Topic, R. 1967, "Effects of drugs on neurotransmitter release: Evidence in vivo and in vitro" Neurosci. Behav. Rev. 2:217-221 1967

Topic, R. and H. Gilges, 1968, "Effects of 4-aminopyridine on transmitter release in hippocampus" Brain Res., 112:221-222.

Topic, R. and S. Hesse-Gibbe, 1977, "Inhibition by GABAergic cells of the calcium dependent release of AChE in hippocampal granules" Brain Res., 104:143-144.

Topic, R. and C. Greer, 1971, "Calcium transport and the release of neurotransmitter: effects of drugs in vivo and in vitro" in R. Topic and C. H. Gibson (eds), Regulatory mechanisms of synaptic transmission, Plenum, New York, pp 144-154.

Topic, R., C. Greer and E. Moralez, 1965, "Studies of the membrane flow and GABAergic transmission and its effects on output", J. of Neurochem., 12:1241-1270.

Topic, R., H. Gilges and E. Moralez, 1965, "Mechanism of the calcium dependent stimulation of transmitter release by 4-aminopyridine in hippocampus", Brain Res., 11:272-273.

Thieleff, D., 1966, "Calcium channels and synaptic transmission", Neurosciencist, 5:147-148.

Winnick, G. R., Hatter and McOm, 1972, "The histochemical localization of histochemical and ultrastructural characteristics", JHI:139-144.

Winnick, G. R., 1966, "Evidence that potassium and calcium are essential for transmitter release in the rat hippocampal slices through interaction with acidic acid residues", Brain Res., 112:120-121.

Winnick, G. R., DeGoda, L. Gilman and H. Garcia-Moran, 1974, "Muscular behavior, neural celling, and sensory output induced by stimulation in the hippocampus", Exp. Neurol., 41:574-587.