

30362

2^o
2^{ej}



Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

ESTUDIO MORFOLOGICO DEL NUCLEO CAUDADO DEL CEREBRO
HUMANO NORMAL Y CON ENFERMEDAD DE PARKINSON
(un estudio con el método de Golgi y microscopía electrónica)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAESTRIA EN NEUROCIENCIAS

P R E S E N T A:

LAURA COLIN BARENQUE

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1994



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.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jesus Machado Salas por su dirección en la elaboración de este trabajo.

Al Dr. Fernando García Hernández, Dr. Manuel Rosales González, Dra. Thalfá Harmony Baillet y Dr. Salvador Hernández López por la revisión del trabajo y sus valiosos comentarios.

A mis compañeros Ma. Rosa, Verónica, Jesús y Enrique por su amistad y ayuda.

Al Dr. Juan Valadez, Dr. Juan Olvera Rabiela y Dra. Laura Chávez por las facilidades brindadas en la obtención de las muestras.

A mis padres

A quienes debo lo que soy

A Liz y Manolo con cariño

A Esteban , Griselle e Ivan

Con gran amor

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
CUERPO ESTRIADO	5
NEOESTRIADO	7
NUCLEO CAUDADO	8
SISTEMA AFERENTE NEOESTRIATAL	
Sistema corticoestriado	9
Sistema talamoestriatal	10
Sistema nigroestriatal	11
Sistema rafe dorsal estriatal	12
Sistema locus coeruleus estriatal	13
Sistema amigdaloesriatal	14
Sistema globo pálido estriatal	15
SISTEMA EFERENTE NEOESTRIATAL	
Sistema estriopalidal	16
Sistema estrioligral	17
REGULACION NEURONAL ESTRIATAL	
Dopamina	19
Acetilcolina	20
Acido gamma-aminobutírico	21
Neuropéptidos opiáceos	22
Neuropéptidos no opiáceos	24
Serotonina (5-TH).....	26
Glutamato y aspartato	27
Norepinefrina	28
CITOLOGIA DEL NEOESTRIADO	29
ORGANIZACION SINAPTICA DEL NEOESTRIADO	40
OBJETIVOS	45
METODO	47

RESULTADOS	56
DISCUSION	84
CONCLUSIONES	91
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	93

ABREVIATURAS

SN	Substancia nigra
L-dopa	Levodopa
GAD	Glutamato descarboxilasa
5-HT	5-hidroxitriptamina
HRP	Peroxidasa de Rábano
NMDA	N-metil-D-Aspartato
GABA	Acido-gamma-amino butírico
Nesp I	Neurona espinosa mediana I
Nesp II	Neurona espinosa mediana II
LM	Neurona lisa mediana
LG	Neurona lisa grande
Ia	Muchas vesículas sinápticas dispersas
Ib	Pocas vesículas sinápticas dispersas
Ila	Muchas vesículas sinápticas concentradas
Ilb	Pocas vesículas sinápticas concentradas
III	Vesículas sinápticas concetradas en la porción sináptica y dispersas en el axoplasma

RESUMEN

La enfermedad de Parkinson se caracteriza por cuatro rasgos clínicos principales; temblor, bradisinecia, rigidez muscular y alteración de la postura.

Los pacientes con enfermedad de Parkinson idopático presentan pérdida celular de la substancia nigra pars compacta y la consecuente degeneración de la vía nigroestriatal.

Así, el objetivo del presente trabajo fué, realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de las alteraciones ultraestructurales del neuropilo del núcleo caudado de los pacientes parkinsonícos y de los sujetos normales. Además realizar un estudio citológico de las subpoblaciones neuronales del núcleo caudado del ser humano normal.

Se obtuvieron muestras del cuadrante dorsomedial de la cabeza del núcleo caudado de cuatro pacientes parkinsonícos y de cuatro sujetos normales con edades semejantes y se procesaron utilizando la técnica de microscopía electrónica de transmisión.

Para el estudio citológico de los sujetos normales se utilizó la técnica de Golgi. Se observaron cuatro poblaciones: neuronas medianas ($24.44 - 17 \mu\text{m}$) con gran densidad de espinas dendríticas (8 esp./ $10 \mu\text{m}$), neuronas medianas ($24.51 - 16.8 \mu\text{m}$) con una densidad espinosa de 5 esp / $10 \mu\text{m}$; otra población la representan las neuronas medianas ($22 - 15.8 \mu\text{m}$) sin espinas y por último las neuronas grandes de $45 - 34 \mu\text{m}$ sin espinas; en las 4 poblaciones se observaron diferentes morfologías celulares, como fusiformes, poligonales, triangulares, ovoides, esféricas, semilunares, piriformes y rectangulares.

El análisis ultraestructural en cortes finos de las muestras de los pacientes parkinsonícos mostró neuronas, axones y dendritas en proceso de degeneración. Estas dendritas estaban asociadas con botones presinápticos. Se midieron las dimensiones de 100 botones sinápticos por caso, directamente en la pantalla del microscopio y se encontró que los botones de los pacientes fueron más grandes que los del grupo control ($p < 0.05$). El análisis de la distribución de las vesículas sinápticas en los botones sinápticos observados, reveló que en los pacientes afectados por la enfermedad, predominaron las distribuciones Ia y III a diferencia de los controles, en los cuales predominaron las distribuciones Ib y II b.

El tipo de contacto doble y axodendrítico predominó en el grupo de los pacientes. Con respecto a la porción postsináptica, en el grupo de pacientes se observó la presencia de espinulas y de neuritas densas que corresponden a dendritas de neuronas estriatales en diferente grado de degeneración.

Nuestros resultados demuestran alteraciones ultraestructurales a nivel pre y postsináptico del neuropilo del núcleo caudado de los pacientes con enfermedad de Parkinson.

INTRODUCCION

La enfermedad de Parkinson, descrita por James Parkinson en 1817, con el nombre de parálisis agitante, es una incapacitación del movimiento (Pearce 1978). La enfermedad se caracteriza por cuatro rasgos clínicos principales; a) temblores en reposo que se han descrito como movimiento de rodar píldoras entre el pulgar y el índice alternativamente, a una frecuencia de 4-7 por segundo, b) bradicinesia, (enlentecimiento del movimiento), c) rigidez muscular, (resistencia al movimiento pasivo) y d) perturbación de la postura como inclinación de la cabeza en posición erecta, tronco dirigido hacia adelante, hombros caídos, brazos flexionados, manos delante del cuerpo y rodillas en flexión.

Los pacientes con enfermedad de Parkinson presentan una severa pérdida de neuronas de la sustancia nigra pars compacta (Jellinger, 1986) y la consecuente disminución en los niveles de dopamina en el estriado Hornykiewicz (1966) y la destrucción experimental de la sustancia nigra, produce depleción de dopamina en el estriado ipsilateral Poirier y cols. (1965).

A consecuencia de la pérdida neuronal nigral existe un decremento de los niveles de dopamina en el núcleo caudado, el putamen el globo pálido y la pars compacta de la sustancia nigra (Yurek y cols. 1990), además existe marcada disminución en la actividad de tirosina hidroxilasa, dopa descarboxilasa, y catecol-O-metil transferasa en el núcleo caudado y sustancia nigra de pacientes parkinsonícos (Lloyd y cols. 1975)

Se ha sugerido que la muerte neuronal de la sustancia nigra de estos pacientes, se deba a la alteración de la actividad de la enzima superóxido dismutasa y el consecuente incremento en la producción de radicales superóxido e inhibición de la función mitocondrial (Jenner P. 1989).

Pakkenberg y cols. (1991) estimaron que el número de las neuronas pigmentadas de la sustancia nigra de 7 pacientes parkinsonícos se reduce en un 66 %, mientras que las neuronas no pigmentadas se reducen el 24 %. Además se ha demostrado que los pacientes parkinsonícos presentan despigmentación de la pars A9 de la sustancia nigra, la cual proyecta principalmente al compartimiento estriosomal del estriado del gato (Jimenez-Castellanos y cols. 1987) y esta despigmentación se ha atribuido a alteraciones en el metabolismo de la dopamina (Kastner y cols. 1992). También se ha reportado pérdida de neuronas grandes dopaminérgicas del grupo ventrolateral de la parte compacta de la sustancia nigra, y pérdida de un número moderado de neuronas dispersas en la porción dorsal de la parte compacta y lateral de la sustancia nigra (Gibb y cols. 1991).

Por otra parte se ha demostrado la presencia de cuerpos de Lewy en el citoplasma de las células afectadas de la sustancia nigra, del núcleo del rafé dorsal y del locus coeruleus (Price y cols. 1986). Estos cuerpos son inclusiones de tipo hialino constituidos ultraestructuralmente por un núcleo amorfo, material granular con algunas membranas y filamentos de 8 a 10 nm de diámetro (Seitelberg y cols. 1990), que se forman por la fosforilación patológica de proteínas que constituyen los neurofilamentos (Jellinger K. 1990).

En el neoestriado McNeill y cols. (1988), estudiaron con el método de Golgi Cox la población de las neuronas medianas espinosas I del putamen de pacientes parkinsonianos y reportaron que estas neuronas mostraron dendritas truncadas con pocas espinas y una marcada reducción en la longitud del árbol dendrítico.

Recientemente Machado y cols. (1990) reportaron cambios degenerativos, en el neuropilo del núcleo caudado de pacientes parkinsonianos, tales como: proliferación astrocítica, degeneración axónica y neuronal, y dendritas postsinápticas hiperdensas.

El decremento de los niveles de transmisores, no está solamente confinado a la dopamina, se han reportado disminución en la concentración de serotonina (Tohgi y cols. 1993) como resultado de la pérdida neuronal (44.5 %) del núcleo del rafe dorsal; disminución de norepinefrina (Bernheimer y cols. 1973) como consecuencia de la pérdida neuronal noradrenérgica del locus coeruleus (Jellinger K. 1986, Bernheimer y cols. 1973, Mann y cols. 1983) y decremento en la inmunoreactividad a sustancia P y met y leu-encefalina en la sustancia nigra y globo pálido (Taquet y cols. 1983, Tenovuo y cols. 1984, Mauborgne y cols. 1983 y Marjorie y cols. 1985), como producto, de la alteración de diferentes aferencias estriatales, se manifiestan los trastornos específicos del movimiento como: la hipertonia muscular la cual se debe básicamente a la predominancia de la actividad colinérgica de las interneuronas y gabaérgica de las neuronas estriatales de proyección (Kish y cols. 1986; McKenzie y cols. 1989). Por otra parte ha sido propuesto que el temblor se debe a un foco de actividad rítmico, localizado en el núcleo ventral lateral talámico (Ringwald y cols. 1988).

Se ha establecido que la renovación de la actividad dopaminérgica en el tratamiento farmacológico de los pacientes con enfermedad de Parkinson mediante la administración de L-dopa resulta benéfica en los signos del parkinsonico y son la base del tratamiento (Markham y cols. 1981).

Sin embargo a pesar que el objetivo teórico en el tratamiento de esta enfermedad es balancear la actividad estriatal, reduciendo la actividad colinérgica ó aumentando la función dopaminérgica no todos los pacientes responden favorablemente al tratamiento con anticolinérgicos o dopaminérgicos, lo que indica que en esta enfermedad no solamente es afectada la vía dopaminérgica nigroestriatal.

CUERPO ESTRIADO

Los ganglios basales son grandes masas subcorticales que se originan embriológicamente a partir del labio inferior de la vesícula telencefálica. Filogenéticamente se consideran entre las estructuras cerebrales más antiguas del telencéfalo y en algunas especies constituyen los centros superiores de control motor extrapiramidal. En los humanos también desempeñan funciones motoras y funciones adicionales para las adquisiciones evolutivas más recientes. Los ganglios basales se han dividido en cuerpo estriado, globo pálido, núcleo subtalámico y substancia nigra. (Carpenter, 1981).

El cuerpo estriado en peces es muy rudimentario. Se encuentra situado en el diencéfalo y está reducido al globo pálido que constituye el paleoestriado. Dado que la corteza cerebral no está desarrollada, el paleoestriado recibe mensajes sensoriales que le transmite el tálamo que es el centro de integración más elevado, aunque anatómicamente es rudimentario.

En los anfibios, el estriado está representado por el núcleo basal el cual recibe aferencias del sistema olfatorio, del tálamo e hipotálamo.

En los reptiles, el neostriado (núcleo caudado y putamen), está representado por la parte anterior del hipopalio (cresta ventricular dorsal) y la porción de corteza hemisférica lateral. El hipopalio se invagina en el ventrículo, debido aun mayor desarrollo del hipocampo y de la neocorteza con respecto al globo pálido. La parte posterior del hipopalio contribuye a la formación de la amígdala.

En las aves, el neostriado es amplio y bien desarrollado. Otras estructuras del reborde ventricular dorsal, el hiperestriado y el ectoestriado, también parecen diferenciarse desde el extremo cefálico del hipopalio. La mayoría del hemisferio cerebral aviar está formado casi exclusivamente por estructuras estriadas. Está cubierto por una capa delgada de corteza pobremente desarrollada. (Ver Harvey y cols. 1981). El complejo amigdalóide forma la parte ventroposterior del hemisferio lateral de aves.

En los mamíferos, en virtud de la telencefalización de las funciones, las uniones corticales se hacen progresivamente más abundantes; el neostriado se convierte en un estructura profunda dentro de los hemisferios. El núcleo caudado y el putamen son

similares en estructura. En los primates el globo pálido se diferencia en dos segmentos, externo (filogenéticamente más antiguo) e interno. (Reiner y cols. 1984).

Existe una clasificación que se basa en los niveles de antigüedad filogenética del cuerpo estriado, subdividiéndolo en arquestriado constituido por amígdala, paleoestriado que comprende el globo pálido y neoestriado formado por el núcleo caudado y putamen.

NEOESTRIADO

Las funciones motoras del neoestriado han sido estudiadas desde 1914 por Wilson K. quien estimuló el putamen y el globo pálido de monos, reportando que ambos núcleos son inexcitables, sin embargo, observó ocasionales movimientos homolaterales de la cara, boca y lengua por estimulación de la superficie externa del putamen y cápsula externa. Kennard y cols. (1942) demostraron en el chimpancé, que la lesión del neoestriado produce movimientos atetoides comparables a los observados a los humanos.

Schultz y cols. (1989) lesionaron la vía nigroestriatal unilateral de Macaca fascicularis para estudiar su posible correlación con la iniciación de movimiento. Estos investigadores demostraron que las neuronas dopaminérgicas responden con impulsos a estímulos externos utilizados para la iniciación de movimientos. Este hallazgo podría explicar, el porque los pacientes parkinsonicos con lesión de neuronas dopaminérgicas, son particularmente deficientes en la iniciación de movimientos.

Alexander y cols. (1990) han propuesto que la organización funcional de los ganglios basales se basa en la presencia de cinco circuitos estriado-tálamo-corticales los cuales son: el motor, el dorsolateral prefrontal, el orbitofrontal lateral, el oculomotor y el límbico: esta organización podría explicar las diferentes funciones de los ganglios basales como son: sensoriomotoras, integrativas, límbicas, y cognitivas.

NUCLEO CAUDADO

El núcleo caudado es una masa de sustancia gris que está situada anterolateralmente al tálamo. Posee una extremidad rostral voluminosa, la cabeza, se halla delante del foramen interventricular y se continúa con la cola delgada, que desciende a la prolongación temporal del ventrículo.

En su parte terminal, la cola, está formada por pequeñas masas discontinuas de sustancia gris que llegan hasta la región basolateral de la amígdala con la cual se continúa. Su extremo rostral está unido lateralmente con el putamen y globo pálido, estando separados en el resto de su extensión por la cápsula interna.

En la prolongación frontal, el núcleo caudado está en relación medial con la estría terminal y la vena talamoestriada que los separan del tálamo. La estría terminal acompaña al núcleo caudado hasta la prolongación temporal del ventrículo. (Carpenter, 1976).

SISTEMA AFERENTE NEOESTRIATAL

Las fibras aferentes al neostriado provienen de : las cortezas cerebrales, el tálamo, la sustancia nigra, el núcleo del rafé dorsal, el locus coeruleus, la amígdala, y el globo pálido. Las conexiones internucleares están muy desarrolladas, y son proyecciones de las neuronas caudoputaminales (muy numerosas en la cabeza del núcleo caudado) y putaminopalidales (Carpenter, 1984).

SISTEMA CORTICOESTRIADO

Las fibras corticoestriadas proyectan de diversas regiones de la neocorteza al estriado y están organizadas topográficamente en anteroposteriores, dorsoventrales y mediolaterales. El mayor número de fibras procede de la corteza motora y premotora. La proyección de la corteza sensoriomotora es bilateral, como también lo son las aferencias de la corteza motora precentral que proyectan al neostriado ipsi y contralateral; aunque en mayor porcentaje al putamen y a una área restringida para el núcleo caudado (Kunzle H. 1975).

En la neocorteza dos tipos neuronales están implicados en la aferencia estriatal: neuronas grandes de la capa V con axones de conducción rápida que proyectan al tallo cerebral y colaterales al estriado y neuronas con axones de conducción lenta

localizadas en las capas V, VI y supragranular, los cuales proyectan bilateralmente al estriado (Kital y cols. 1976, McGeorge y cols. 1987, Royce 1982).

Existen evidencias que el neurotransmisor que regula la vía corticoestriatal es el glutamato (García-Muñoz y cols. 1991) y se ha propuesto que la liberación de dicho neurotransmisor es modulada por la liberación dopaminérgica de las neuronas nigroestriatales (Cepeda y cols. 1993)

SISTEMA TALAMOESTRIATAL

Las fibras talamoestriatales proyectan del complejo nuclear centromediano parafascicular, al putamen y al cuerpo del núcleo caudado, y el núcleo talámico intralaminar rostral proyecta a la cabeza del núcleo caudado y a la parte rostral del putamen (Parent y cols. 1983).

Royce y cols. en 1978 establecieron por estudios con trazadores, en gato, las proyecciones de los núcleos ventral anterior y dorsomedial talámicos hacia la cabeza del núcleo caudado.

Veening y cols. (1980) proponen que la proyección talamoestriatal está organizada topográficamente; la parte rostral del caudoputamen recibe aferentes de la porción anterior y medial del tálamo, mientras que la parte caudal recibe aferencias de la porción caudal y ventrolateral del tálamo.

Por otra parte Sadikot y cols. (1990) establecieron que las fibras talamoestriatales del complejo nuclear centromediano parafascicular proyectan principalmente a la porción ventromedial del putamen y del núcleo caudado.

SISTEMA NIGROESTRIATAL

Las fibras dopaminérgicas nigroestriadas constituyen la vía aferente del putamen. Existen evidencias que las células grandes de la parte compacta de la sustancia nigra proyectan al neostriado (Anden y cols. 1965) y operan en paralelo con circuitos de retroalimentación, involucrando los núcleos ventral anterior y dorsomedial talámico; estos núcleos talámicos proyectan topográficamente a la corteza y a su vez son inhibidos por la sustancia nigra pars reticulata y por el segmento interno del globo pálido (Royce 1978; Alexander y cols. 1990).

El haz nigroestriatal cursa rostralmente en el diencefalo y ocupa una parte en el área hipotalámica dorso lateral y otra en la porción medial de la cápsula interna. Rostralmente las fibras corren dorsalmente en la cápsula interna y se distribuyen hacia el caudado y putamen (Moore y cols. 1979).

Existen relaciones topográficas entre células nigrales que proyectan al estriado y al tálamo (Carpenter y cols. 1972, Moore y cols. 1979, Ungerstedt U. 1971). Las fibras nigroestriatales están organizadas de la siguiente forma: las partes laterales de la sustancia nigra proyectan predominantemente a la porción dorsal del putamen,

mientras que la porciones mediales de la nigra proyectan a la región ventral del putamen en la rata (Ungerstedt U. 1971). Las neuronas de la porción ventral de la substancia nigra envían fibras a la porción dorsal del núcleo caudado y neuronas de la porción dorsal de la substancia nigra proyectan a porciones ventromediales del núcleo caudado (Szabo, 1980).

La substancia nigra inerva selectivamente los diferentes compartimientos estriatales; Langer y cols. (1989) demostraron en primates que el grupo celular A8 proyecta a la matriz estriatal y el grupo celular A10 de la pars compacta de la substancia nigra proyecta a los estriosomas; además Szabo (1980) demostró que subpoblaciones neuronales dopaminérgicas de la porción ventral de la substancia nigra proyectan a los estriosomas estriatales y la porción dorsal inerva la matriz.

Las fibras nigroestriatales emiten colaterales axónicas que muestran gran densidad de botones dopaminérgicos finos (Hökfelt y cols. 1969). Anden y cols. (1966) reportaron que una neurona dopaminérgica nigral que inerva el neostriado contiene 120 pg de dopamina, un axón de 55-77 cm de longitud y 500 000 botones sinápticos.

SISTEMA RAPE DORSAL ESTRIATAL

La proyección aferente del núcleo del rafe dorsal al estriado, muestra un gran componente serotoninérgico (Anden y cols. 1966; Azmitia y cols. 1978; Royce y cols. 1978; Streit y cols. 1980; Szabo y cols. 1980 y Veening y cols. 1980). Steinbusch en 1981 determinó inmunoreactividad a serotonina en las porciones dorsomedial y

lateral del rafe que proyectan al estriado ventromedial, mientras que la porción ventromedial del rafe no es serotoninérgica; Ochi y cols. (1978) reportaron la presencia de neuronas dopaminérgicas en esta porción del rafe.

Azmitia y cols. (1978) mediante la técnica de autoradiografía en ratas, establecieron que el tracto del rafe dorsal está localizado ventrolateralmente al fascículo longitudinal medial. Estas fibras corren rostralmente a los campos de Forel, donde se extienden lateralmente a la zona incerta y entran a la cápsula interna, y hacen contacto con el núcleo caudado y el putamen en la porción caudolateral. Los autores establecieron que los axones de esta vía ascendente contiene 5-hidroxitriptamina. Steinbusch y cols. en 1981 mediante estudios inmunohistoquímicos y transporte retrógrado en la rata, establecieron que el 33% de las neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafe dorsal proyectan al caudado y putamen y una pequeña población (8%) no contienen serotonina.

SISTEMA LOCUS COERULEUS ESTRIATAL

Forlez y cols. (1977) realizaron un estudio sobre la distribución de norepinefrina en las áreas subcorticales del cerebro humano y reportaron niveles altos en el locus coeruleus (1.22 $\mu\text{g/g}$) y bajos (0.10 $\mu\text{g/g}$) en el núcleo caudado, el putamen y el globo pálido parte interna y externa. En particular ha sido reportado un decremento en la enfermedad de Parkinson (Fahn y cols. 1971). La lesión unilateral

del haz ventral noradrenérgico produce disminución de norepinefrina en el núcleo caudado y además causa decremento bilateral en las concentraciones de dopamina en el núcleo caudado (O'Donohue y cols. 1979). El haz noradrenérgico dorsal que se origina en el locus coeruleus proyecta bilateralmente al núcleo caudado y el putamen (Jacobowitz y cols. 1974).

SISTEMA AMIGDALOESTRIATAL

El núcleo basolateral de la amígdala proyecta bilateralmente a la parte centrodorsal del caudoputamen (Kelley y cols. 1982; Royce y cols. 1978 y Veening y cols. 1980). Otros componentes de la proyección amigdaloes triatal se originan del núcleo lateral y basomedial de la amígdala y las terminaciones de este sistema se distribuyen en los parches estriatales (zonas con altas concentraciones de receptores opiáceos y baja actividad de acetilcolinesterasa) (Kelley y cols. 1982).

Los neurotransmisores asociados con la vía amigdaloes triatal, no están bien establecidos, pero Roberts y cols. (1982) reportaron que regiones centrales del complejo amigdaloides envían fibras hacia el núcleo cortical y medial para proyectar a la vía ventral amigdalofugal y conectar con el caudoputamen. Estas terminaciones contienen inmunoreactividad a colecistoquinina presente en algunas células (30%) del núcleo basomedial y basolateral de la amígdala (Meyer y cols. 1982).

Posteriormente Ragsdale y cols. (1988), demostraron que las fibras del núcleo basolateral de la amígdala inervan selectivamente los parches de la parte dorsal del núcleo caudado.

SISTEMA GLOBO PALIDO ESTRIATAL

Nauta en 1979 evidenció mediante técnicas autoradiográficas en gato, la proyección del segmento palidal externo hacia el núcleo subtalámico, la sustancia nigra, el núcleo caudado y el putamen. Staines en 1980 demostró la existencia de la proyección palidoestriatal por transporte retrógrado utilizando peroxidasa de rabano. Mc Geer en 1971 demostró un pequeño decremento de acetilcolinesterasa en el estriado después de la lesión palidal.

Se han propuesto como neurotransmisores reguladores de esta vía a la sustancia P y al GABA (Cuello y cols. 1978 y Ribak y cols. 1979).

SISTEMA EFERENTE NEOESTRIATAL

Las proyecciones eferentes del neoestriado están limitadas principalmente al globo pálido y a la sustancia nigra pars reticulata, aunque también existen fibras internucleares entre el núcleo caudado y el putamen.

SISTEMA ESTRIOPALIDAL

La mayor proyección eferente del neostriado se realiza al globo pálido, localizado medialmente al putamen separado por la lámina externa. Esta estructura está dividida en dos segmentos; el palidal externo y el interno. La aferencia a este complejo llega tanto del caudado como del putamen y del núcleo subtalámico. Aunque las fibras estriopalidales proyectan a ambos segmentos del pálido, la cabeza del núcleo caudado proyecta a la porción dorsal y rostral del pálido mientras que el putamen proyecta a las porciones ventral y caudal (Carpenter 1976). Además, existe proyección del estriado rostral y caudal al pálido rostral y caudal respectivamente (Hedreen y cols.1991).

Existen diferencias importantes en las eferencias estriopalidales; Alexander y cols. (1990) establecieron dos vías de proyección estriopalidal; una directa regulada por el GABA y la sustancia P; en esta vía las neuronas estriatales proyectan al segmento interno del globo pálido y a la sustancia nigra pars reticulata. Las neuronas de estas últimas estructuras son de proyección y emiten eferencias al complejo ventral anterior, ventral lateral, intralaminar talámicos y núcleo habenuar lateral para finalmente proyectar a la corteza.

La vía indirecta está regulada por GABA y encefalinas en la cual neuronas estriatales proyectan al segmento externo del globo pálido y este emite eferencias al núcleo subtalámico dicho núcleo proyecta al segmento interno del globo pálido y a la pars reticulata de la sustancia nigra para continuar el circuito pálido- talamo- cortical.

De la misma manera Reiner y cols. (1990) proponen dos tipos de neuronas estriopálidas; una población de neuronas que proyectan al globo pálido medial y contienen GABA, dinorfina y sustancia P, y otro grupo de neuronas estriatales que proyectan al globo pálido lateral que contienen GABA y encefalinas.

SISTEMA ESTRIONIGRAL

La vía estrionigral proyecta desde el neostriado hacia la porción reticular de la sustancia nigra. Estudios de Voneida en 1960 demostraron que las fibras de la cabeza del núcleo caudado proyectan a la porción rostral de la sustancia nigra, mientras que la porción dorsal del putamen proyecta hacia la porción lateral y la región ventral proyecta hacia la parte medial de la nigra.

Posteriormente Gerfen en 1985 realizó estudios sobre la organización de la vía estriatonigral en la rata, relacionada con los compartimentos neuroquímicamente diferenciados (los parches y la matriz inmunoreactiva a somatostatina); reportando dos tipos de organización; uno topográfico en el que describió que la relación medio lateral y dorso ventral, entre neuronas estriatales eferentes y la sustancia nigra. El segundo tipo de organización descrita es no topográfico y provee un sistema diferente de convergencia que se sobrepone en el sistema topográfico, y por consiguiente el sistema de proyección medio lateral y dorso ventral no se mantiene. Así la inyección de marcadores anterógrados al estriado dorsal, evidencia la proyección a la porción ventral de la parte reticular de la sustancia nigra

(SN) y además una pequeña proyección a la porción dorsal reticular adyacente a la parte compacta. Finalmente describió, que los cuerpos neuronales con dendritas, localizadas en los parches estriatales proyectan a la parte compacta de la SN, mientras que las neuronas de la matriz proyectan a la parte reticular.

Se ha localizado ácido glutámico descarboxilasa (enzima que participa en la síntesis de GABA) en neuronas de 15-18 μm y de 10-12 μm en la pars reticulata de la sustancia nigra y la lesión de la vía estriatonigral produce alteración en el contenido del ácido glutámico descarboxilasa lo que indica que la vía estriatonigral es gabaérgica (Ribak y cols. 1980).

Por otra parte Bolam y cols. (1990) han demostrado que los botones sinápticos que contienen GABA y sustancia P realizan contactos simétricos con las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra pars compacta y proponen que dichos botones sinápticos se origina del estriado.

REGULACION NEURONAL ESTRIATAL

Las relaciones neuronales en el neostriado son muy complejas como se mencionó anteriormente el neostriado recibe numerosas aferencias y existen evidencias que demuestran la presencia de gran variedad de neurotransmisores como son; dopamina, acetilcolina, ácido gamma-aminobutírico, encefalinas, sustancia P, 5-hidroxitriptamina, glutamato, aspartato, norepinefrina, neuropéptido Y, colecistoquinina y dinorfina.

DOPAMINA

El neostriado está densamente innervado por terminales finas dopaminérgicas que provienen de axones de las neuronas de la parte compacta de la sustancia nigra (Anden y cols. 1964, 1965. Fuxe y cols. 1964, Polrier y cols. 1965 y Ungerstedt 1971). Estudios de inmunohistoquímica en ratas de diferentes edades realizados por Olson (1972) evidenciaron la vía nigroestriada en ratas de 13 días de gestación, y la presencia de dopamina en el neostriado de ratas de 7 días de nacimiento y hasta el estadio adulto.

El control principal de la actividad dopaminérgica está mediado por las neuronas gabaérgicas estriales que forman parte de la retroalimentación negativa (Carlsson, 1976), mientras que la sustancia P es un neurotransmisor excitatorio de la actividad dopaminérgica.

Se ha propuesto que la liberación de dopamina de la vía nigroestriada está modulada por: 1) la vía estriatonigral mediante la acción del GABA, la dinorfina y la sustancia P (Reid y cols. 1990), 2) por la vía pedúnculo pontina nigral mediante la actividad colinérgica del núcleo tectal pedúnculo pontino (Balaha y cols. 1993), a través de los contactos asimétricos de terminales colinérgicas con el pericarión y las dendritas de las neuronas nigrales dopaminérgicas (Bolam y cols. 1991) y 3) vía los autoreceptores en las sinápsis dendrodendríticas de la sustancia nigra pars reticulata y pars compacta (Tepper y cols. 1987).

La lesión de la vía nigroestriatal mediante la inyección de 6-hidroxidopamina en el haz medial del cerebro anterior produce alteración en los niveles de dopamina y de algunos neuropéptidos en el neostriado; decremento en la biosíntesis de la sustancia P en el estriado ventral y dorsal (Voom y cols. 1987), incremento en el contenido y biosíntesis de neuroquinina B, neuropéptido Y y somatostatina (Lindfors y cols. 1990), incremento en el área sináptica inmunoreactiva a encefalinas del neostriado de la rata (Ingham y cols. 1991) y pérdida de espinas dendríticas y porción distal dendrítica (Ingham y cols. 1993).

ACETILCOLINA

El estriado tiene altas concentraciones de acetilcolina producida y liberada por interneuronas que forman un circuito local estriatal (Butcher y cols. 1974).

Aparentemente la función colinérgica estriatal es inhibida por la actividad dopaminérgica nigroestriatal, así los agonistas dopaminérgicos decremantan la liberación de acetilcolina estriatal e incrementan su concentración endógena estriatal. Los bloqueadores de los receptores dopaminérgicos incrementan la liberación de acetilcolina y disminuye la concentración endógena de dicho transmisor (Guyenet y cols. 1975). Recientemente han sido estudiadas por Chang (1988) las relaciones sinápticas entre las neuronas colinérgicas y los axones dopaminérgicos en el estriado de la rata. Por métodos inmunocitoquímicos se identificó la inmunoreactividad por la acetilcolin transferasa para las neuronas colinérgicas y por la tirosina

hidroxilasa para las terminales dopaminérgicas. Sus resultados sugieren la existencia de una relación monosináptica de terminales dopaminérgicas con terminales colinérgicas. La densa inervación del neocóstriado de fibras colinérgicas y dopaminérgicas es relevante para entender la enfermedad de Parkinson donde una reducción de aferentes dopaminérgicas puede producir un desequilibrio en la inervación y contenido de acetilcolina (Jacobowitz y cols. 1974).

ACIDO GAMMA-AMINO BUTIRICO (GABA)

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio de las vías estriopálida y estriónigral. El estriado contiene altas concentraciones de GABA presente en interneuronas (Mc.Geer y cols. 1975) y en neuronas de proyección al globo pálido y a la sustancia nigra, estas últimas forman la retroalimentación inhibitoria estriatonigral.

Por otra parte Oertel y cols. en 1984 demostraron la presencia de glutamato descarboxilasa (GAD) en las neuronas del caudado y putamen que varían de tamaño entre 13-18 μm . Estas neuronas mostraron inmunoreactividad para la GAD (enzima que participa en la síntesis del GABA) y para péptidos opioides, lo que implica una coexistencia de GABA y neuropéptidos en la misma neurona. Posteriormente Kita y cols. (1988) por estudios de inmunohistoquímica, realizados en el neocóstriado de la rata, evidenciaron diferentes tipos neuronales inmunoreactivos a GAD el 80-84 % corresponde a las neuronas espinosas tipo I, el 3-5 % de neuronas pequeñas ó

medianas de pericarión oval o esférico y finalmente pocas neuronas de grandes dimensiones y pericarión poligonal. Bolam y cols. en 1982 realizaron marcaje en el estriado con (3H) GABA e identificaron otra población de neuronas marcadas sin espinas de tamaño medio. Recientemente Pasik (1988) reveló mediante microscopía de luz neuronas neoestriatales de tamaño medio con diferente grado de marcaje GABA positivo. Ultraestructuralmente diferenció dos tipos neuronales GABA positivos; una con núcleo liso, de citoplasma escaso similar a las neuronas espinosas I (probablemente eferente) y otra con núcleo con invaginaciones y abundante pericarión que asemeja al tipo neuronal sin espinas (interneurona).

NEUROPEPTIDOS OPIACEOS

Se han identificado opiáceos endógenos como las encefalinas (Met y Leu), dinorfina en altas concentraciones en el neoestriado.

Se ha reportado que el estriado contiene encefalinas opiáceas (Audigier y cols. 1972) y que existen receptores a opiáceos localizados en las terminales dopaminérgicas en el estriado (Pollard y cols. 1977). Hong y cols. (1977) han propuesto que las neuronas encefalinérgicas aumentan la liberación de dopamina.

Posteriormente fué demostrada la presencia de gran cantidad de receptores a opiáceos en el núcleo caudado de los primates (Wamsley y cols. 1982; Kuhar y cols. 1973). Estos muestran una distribución en mosaico en las terminales aferentes

parafasciculares talámicas pobres en acetilcolinesterasa (Herkenham y cols. 1981). Por otra parte Emson y cols. (1980) reportaron altas concentraciones de Met-enkefalina en el núcleo caudado, el putamen y la sustancia nigra.

En la porción caudal del núcleo caudado y putamen la inmunoreactividad a encefalinas se encuentra dispersa y moderada. En el cuerpo del caudado, la reacción es más aparente en las porciones ventral y medial, mientras que en las porciones rostrales la densidad se incrementa y se distribuye en forma de parches (Haber y cols. 1982). Observaciones realizadas mediante microscopía de luz y electrónica en el neocórtex del mono han evidenciado la presencia de Leu-enkefalina en las neuronas medianas estriatales que emiten colaterales que proyectan al globo pálido y a la sustancia nigra (DiFiglia y cols. 1982, Gerfen y cols. 1988).

DINORFINA

La dinorfina es un miembro de la familia de los opiáceos. Weber y cols. 1982, mostraron altas concentraciones de dinorfina en el estriado de la rata. También se ha reportado la presencia de este opiáceo en la sustancia nigra (Haber y cols. 1985) lo que puede implicar que la vía aferente nigral también está regulada por dinorfina (Weber y cols. 1982). Por otra parte Gerfen y cols. (1988), mediante estudios de hibridación in situ y marcaje retrógrado de las neuronas estriatales, revelaron que gran cantidad de neuronas estriatales contienen dinorfina y además la

existencia de dos poblaciones de neuronas espinosas de acuerdo al RNAm de los receptores a la dopamina (Gerfen y cols. 1988).

NEUROPEPTIDOS NO OPIACEOS

TAQUININAS

Las taquininas pertenecen a la familia de los neuropéptidos (Erspamer 1981) por muchos años se consideró a la sustancia P como único miembro de esta familia. Sin embargo, posteriormente se aislaron y caracterizaron a partir de la médula espinal del cerdo a la neurokinina A, sustancia K y neurokinina B. Se ha demostrado la presencia de inmunoreactividad a taquininas en sinaptosomas de núcleo caudado y putamen de la rata (Diez-Guerra y cols. 1988) y la presencia de sustancia P y K en las neuronas estriatonigrales de la rata (Lee y cols. 1986). La biosíntesis de taquininas se ve alterada, con los cambios en la neurotransmisión de la serotonina, debido a que la serotonina facilita la liberación de dopamina se ha sugerido que la serotonina tiene un efecto neuromodulador indirecto a través de la vía nigroestriatal (Walker y cols. 1991).

SUBSTANCIA P

La sustancia P es un undecapéptido presente en el sistema nervioso central (Cooper y cols. 1981). Existen estudios inmunohistoquímicos que revelan, que las neuronas estriatales, que contienen sustancia P proyectan principalmente a la

substancia nigra (Christensson-Nylander y cols. 1986). La administración iontoforética de substancia P depolariza las células nigrales (Davles y cols. 1976) lo que sugiere que esta respuesta, excitadora sea atribuida a la liberación de substancia P, como consecuencia de la estimulación del caudado y se ha propuesto que la substancia P modula la liberación de dopamina de la vía nigroestriatal (Reid y cols. 1990).

Penny en 1986 demostró la presencia de substancia P en el 30% del neostriado de gato y en el 38 % en el de rata. Las neuronas estriatales inmunoreactivas a substancia P son de forma oval, esférica ó triangular, de 15-20 μm de diámetro aunque algunas son de 30 μm y de forma pleomórfica (Beach y cols. 1984).

COLECISTOQUININA (CCK)

La CCK es un octapéptido y se ha determinado por variadas técnicas de estudio su presencia de en el sistema nervioso central. Hökfelt en 1980 reporta la presencia de inmunoreactividad a CCK y a tirosina hidroxilasa en el área tegmental ventral así como en la porción lateral y rostral de la zona compacta de la substancia nigra, y en el núcleo caudado en la porción caudal periventricular y porción posterior.

NEUROPEPTIDO Y

El neuropéptido Y está constituido, por 36 aminoácidos y fué aislado por primera vez de cerebro porcino (Tatemoto y cols. 1982). Se ha estudiado su distribución en el

cerebro humano, y se ha encontrado particularmente concentrado en la corteza sensoriomotora, la amígdala, el hipocampo y los ganglios basales, especialmente en gran número de neuronas del núcleo caudado y el putamen (Adrian y cols. 1983). Estas neuronas son de tamaño medio de 20 μm de diámetro y ocasionalmente neuronas grandes, que se postulan como interneuronas (Dawbarn y cols. 1984), que por sus características ultraestructurales corresponden a las neuronas sin espinas, tipo IV (Vuillet y cols. 1989).

SEROTONINA (5-HT)

Se ha demostrado la distribución topográfica de terminales serotoninérgicas que provienen del núcleo del rapé y que inervan el neocórtex de la rata (Hattori y cols. 1976) y el núcleo caudado del gato (Ternaux y cols. 1977). En ambas especies las terminales 5-HT están localizadas en el área ventrocaudal del neocórtex. En esta área la concentración de 5-HT es de 17 ng/ mg de proteína y la densidad de terminales decrece progresivamente en el eje caudo rostral. La concentración de 5-HT estriatal se incrementa cuando se depleta la dopamina de la sustancia nigra por lesión con 6-hidroxi-dopamina (Towle y cols. 1989). La lesión electrolítica del rapé superior y dorsal produce un gran decremento en la concentración de 5-HT en el neocórtex de la rata (Ternaux y cols. 1977) y la estimulación del rapé dorsal

produce liberación de 5-HT en el núcleo caudado implicando conexión funcional en este sitio (Holman y cols. 1972).

GLUTAMATO Y ASPARTATO

El glutamato y el aspartato son aminoácidos excitadores asociados a la proyección corticoestriatal (Carlsson y cols. 1990). Se han reportado altos niveles de estos aminoácidos en la corteza cerebral y el estriado (DeFeudis y cols. 1970). La estimulación cortical produce excitación monosináptica de las neuronas estriatales (Kitai y cols. 1976) y esta respuesta es bloqueada con antagonistas de glutamato (Spencer y cols. 1976). La ablación unilateral de las áreas corticales 4 y 6 de Brodmann, decrementa la recaptura de glutamato en 26 % en el caudoputamen del lado ipsilateral, lo que evidencia el papel de L-glutamato como neurotransmisor de la vía corticofugal en primates (Young y cols. 1983).

Nieullon y cols. (1978) reportaron que la estimulación de la corteza motora, produce la liberación de la dopamina endógena en el núcleo caudado, sugiriendo que la vía nigroestriatal está parcialmente regulada por el sistema glutamatérgico cortical. Por otra parte los antagonistas glutamatérgicos producen la activación de las neuronas nigroestriatales, efecto que podría explicarse de la siguiente manera: al inhibir el sistema glutamatérgico se decrementa la actividad de las neuronas estriatonigrales gabaérgicas, resultando en un decremento en la inhibición de las neuronas

nigroestriales dopaminérgicas e incrementándose la transmisión dopaminérgica en el neostriado (Carlsson y cols. 1990).

Por otra parte Bryan y cols. (1992) realizaron estudios de microdiálisis en el estriado de la rata y demostraron que los agonistas dopaminérgicos inhiben la liberación de glutamato y aspartato.

NOREPINEFRINA

Como se mencionó anteriormente la norepinefrina se encuentra en bajas concentraciones en el estriado y su origen es de las aferencias del locus coeruleus. Además, el neostriado presenta baja densidad de receptores beta-adrenérgicos (Bylund y cols. 1976) y se ha evidenciado en el caudo putamen de la rata, la presencia de estos receptores en dendritas que realizan contactos simétricos y asimétricos con botones noradrenérgicos (Aoki y cols. 1990).

Se ha demostrado que el isoproterenol (agonista beta-adrenérgico) incrementa la liberación de dopamina *in vitro* (Reisine y cols. 1982). La aplicación local de propanolol (antagonista beta- adrenérgico) *in vivo*, en el núcleo caudado del gato, decrece la liberación de la dopamina. Estos resultados sugieren una interacción facilitadora de la norepinefrina sobre las neuronas dopaminérgicas estriatales (McDonaldson y cols. 1976).

CITOLOGIA DEL NEOESTRIADO

Se han realizado estudios a nivel de microscopía de luz, utilizando variantes del método de Golgi, en el neoestriado para revelar la morfología de las neuronas, el patrón dendrítico y la presencia o ausencia de espinas dendríticas y arborización del axón.

Existen diferentes clasificaciones sobre los tipos neuronales neoestriatales, basadas por una parte en el tamaño celular y por otro por la presencia o ausencia de espinas dendríticas. Chang y cols. (1982) realizaron un análisis citológico del neoestriado de la rata, utilizando la técnica de Golgi rápido y describieron dos tipos de neuronas grandes de soma de 20 μm de diámetro; las cuales las clasificaron en tipo I: el soma de forma poligonal o fusiforme con dendritas primarias, secundarias y terciarias lisas, sin espinas ni varicosidades aunque muestra espinas ocasionales y el axón emite colaterales. El segundo tipo corresponde a las neuronas poligonales, esféricas ó fusiformes, con pocas espinas somáticas, dendríticas y cuya densidad espinosa decrece cuando se incrementa la distancia del soma. Además diferenciaron 5 tipos neuronales de tamaño medio con 10-20 μm de diámetro. El tipo I corresponde a la neurona con gran densidad espinosa en las dendritas distales, mientras que las dendritas proximales son lisas al igual que el soma, el axón emite 3 a 4 colaterales. El tipo II: tienen espinas somáticas y en las dendritas proximales, disminuyendo la densidad espinosa mientras se incrementa la distancia al soma, muestran dendritas

que irradian de forma multipolar y algunas presentan varicosidades. Los tipos neuronales III, IV y V tienen características similares; son células con el soma sin espinas y dendritas que irradian en muchas direcciones mostrando pocas espinas (tipo IV), a diferencia del tipo III el cual tiene pocas ramificaciones dendríticas. Estos dos tipos neuronales no presentan varicosidades dendríticas a diferencia del tipo V que sí las presenta. El último tipo neuronal descrito por estos autores, son neuronas pequeñas de 10 μm de diámetro de forma esférica con tres dendritas primarias, con pocas espinas y el axón ramificado cerca del soma. (Ver Tabla 1). Los autores no describen las características del axón en todos los tipos celulares debido a que en dichas neuronas los axones no se impregnaron.

A diferencia de estos autores Dimova y cols. (1980) reportaron en el neocórtex de la rata cuatro tipos neuronales de tamaño medio. El tipo I corresponde a las células de forma oval o poligonal con 4-7 dendritas que emergen del pericarión, las dendritas primarias y la parte inicial de las secundarias no presentan espinas, mientras que el número de espinas se incrementa en las terciarias. En cuanto a la ultraestructura de estas neuronas, tienen núcleo central, esférico u ovoide con inclusiones intranucleares, el citoplasma es moderado presentando cisternas de retículo endoplásmico dispersas y no forman cuerpos de Nissl, con ribosomas y polirribosomas libres entre las cisternas, un número moderado de mitocondrias y microtúbulos situados en paralelo al núcleo. Las neuronas tipo II son ovales con pocas espinas y de 4-5 dendritas primarias, el núcleo es oval con algunas invaginaciones e inclusiones intranucleares, el citoplasma contiene pocas

cisternas de retículo endoplásmico rugoso, un número moderado de mitocondrias y dendritas primarias irregulares espinosas con muchas organelos que incluyen mitocondrias, retículo endoplásmico y cuerpos densos. El cuerpo celular de las neuronas tipo III es oval del cual emergen 7 dendritas de 200-250 μm de longitud, son marcadamente varicosas con pocas espinas, el núcleo es oval excéntrico con una o más invaginaciones con el nucleolo grande e inclusiones intranucleares, el citoplasma es abundante con retículo endoplásmico rugoso bien desarrollado, numerosos ribosomas libres, mitocondrias de forma variable y gran cantidad de aparato de Golgi. Las dendritas primarias son varicosas y contienen microtúbulos, numerosas mitocondrias, cisternas granulares y ribosomas libres. El tipo neuronal IV tiene forma esférica u ovoide con 3 dendritas primarias de 250-300 μm de longitud, se establecen algunas espinas en dendritas secundarias y su número se incrementa en las porciones distales, presenta núcleo irregular, polilobulado debido a las numerosas y profundas invaginaciones e inclusiones intranucleares, el citoplasma es escaso con poco retículo endoplásmico rugoso, número moderado de ribosomas, pocas mitocondrias, el aparato de Golgi bien desarrollado y numerosos cuerpos densos. Estos autores diferenciaron un tipo neuronal grande de forma elongada con 30-60 μm de diámetro, dendritas poco ramificadas las cuales se originan de dos polos y muestran pocas espinas y varicosidades. El soma presenta un núcleo grande con profundas invaginaciones, citoplasma abundante rico en polisomas, abundante retículo endoplásmico rugoso formando cuerpos de Nissl en la periferia del pericarión. Rodeando al núcleo se encuentran lisosomas, aparato de Golgi y

Golgi y mitocondrias escasas. Finalmente describen una célula pequeña de 5-10 μm de diámetro del pericarión, de forma oval, igual que el núcleo que muestra invaginaciones, cromatina condensada y nucleolo grande, el citoplasma escaso con pocos organelos, rodeando al núcleo, abundantes lisosomas muchos de ellos polimórficos. La ausencia de axón y de procesos sinápticos sugirieron a los autores que se trata de una célula glial.

Fox y cols. (1971) realizaron un estudio citológico del núcleo caudado del mono Macaca mulatta y reportaron el 95 % de células que corresponden a las neuronas espinosas de forma esférica, ovoide, fusiforme ó triangular y dendritas de 2.5 μm de diámetro, con espinas sésiles y pedunculadas; el axón es corto que emerge del pericarión y emite colaterales. El núcleo es central ocasionalmente indentado con 1 o 2 nucleolos excéntricos, el citoplasma presenta mitocondrias, pocos neurotúbulos, aparato de Golgi y numerosos ribosomas libres. Las dendritas presentan mitocondrias, ribosomas libres y ocasionales grupos de retículo endoplásmico rugoso. Por otra parte estos autores identificaron dos tipos neuronales sin espinas; dendríticas. Uno de ellos corresponde a las neuronas grandes, de forma elongada con 44 μm de diámetro, de núcleo ovoide excéntrico, nucleolo grande, citoplasma con cuerpos de Nissl, aparato de Golgi con vesículas, pocos neurotubulos y gran cantidad de cuerpos densos. El segundo tipo neuronal lo conforman las células con forma de araña de 22 μm de diámetro, con las dendritas curvas formando un campo dendrítico esférico, el núcleo esférico tiene poros nucleares visibles, el citoplasma presenta

muchos neurotúbulos, aparato de Golgi extenso con muchas vesículas asociadas y retículo endoplásmico rugoso difuso.

A diferencia de estos autores, Pasik y cols. (1976) reportaron dos tipos neuronales con espinas. El tipo espinosa I de 22 μm de diámetro, muestra dendritas con gran densidad de espinas dendríticas 15/10 μm sin varicosidades y el campo dendrítico tiene 200 μm de longitud, el axón es largo muy ramificado, el núcleo celular presenta el borde denso debido al acúmulo de cromatina, el citoplasma con numerosas mitocondrias, abundantes microtúbulos y ribosomas en rosetas, poco retículo endoplásmico, el aparato de Golgi es moderado y está localizado cerca del núcleo y base de las dendritas las cuales presentan aparato espinoso, mitocondrias oscuras y pocos microtúbulos. El tipo neuronal II corresponde a neuronas de 22 μm de diámetro que muestra baja densidad espinosa 5/10 μm sin varicosidades y el campo dendrítico tiene 600 μm de longitud, el axón es largo poco ramificado, el citoplasma presenta mitocondrias de tamaño medio, ribosomas libres, muchos lisosomas, aparato de Golgi muy desarrollado y retículo endoplásmico liso y rugoso escaso. Además identificaron tres tipos neuronales sin espinas. El tipo I es de tamaño medio, muestra muchas varicosidades dendríticas, el axón es corto con arborizaciones, el núcleo es pálido con 1 o 2 indentaciones, el citoplasma presenta retículo endoplásmico liso y rugoso, ribosomas libres o en forma de rosetas, y el aparato de Golgi es muy desarrollado. El tipo II sin espinas es de tamaño grande esférico de 30 X 40 μm de diámetro, longitud dendrítica de 250 μm , la dendritas presentan

muchas varicosidades, el núcleo es excéntrico con invaginaciones, el citoplasma tiene numerosas mitocondrias, lisosomas, gránulos de lipofucsina, ribosomas libres y abundante aparato de Golgi. El tipo III sin espinas es de tamaño medio, con 150 μm de longitud dendrítica, con espinas o varicosidades ocasionales, el axón es corto y ramificado, el núcleo tiene pocos agregados de cromatina en la membrana nuclear, el citoplasma presenta mitocondrias de tamaño medio, abundantes ribosomas en forma de rosetas, el retículo endoplásmico predominante y el aparato de Golgi muy desarrollado. El último tipo celular lo clasifican estos autores como neuroglíoforme, corresponde a una célula pequeña de 11 μm de diámetro sin espinas, con pocas varicosidades, de 70 μm de longitud dendrítica. (Ver Tabla 2)

A pesar que la citología del neocórtex de diferentes especies se ha estudiado ampliamente, no se ha llegado a un consenso general debido a las diferentes subpoblaciones celulares, y a que los estudios sobre el neocórtex del humano son escasos. De los trabajos realizados en el córtex de humano destacan los de Braak y cols. (1982). Estos autores reportaron tres tipos neuronales con espinas, dos de tamaño medio y uno grande. Estos autores las clasifican como; las neuronas espinosas tipo I de forma poligonal o fusiforme, con gran densidad espinoza, y numerosas dendritas secundarias, axón que emerge del soma o de la dendrita primaria y muestra numerosas colaterales. El soma presenta el núcleo ovoide, pálido, central con el nucleolo conspicuo. Las neuronas espinosas tipo II son de forma triangular o fusiforme de tamaño medio a grande, con pocas espinas de forma y tamaño variable en el soma, el núcleo es elipsoide, central con profundas

interdigitaciones y nucleolo conspicuo. Las neuronas espinosas tipo III grandes, son de forma multipolar o fusiforme, con escasas espinas en la porción distal de las dendritas, el núcleo es central globular con el nucleolo conspicuo. Además estos autores reportaron dos tipos neuronales sin espinas las cuales dividieron en las neuronas grandes tipo IV y V. Las neuronas tipo IV presentan forma esférica con las dendritas varicosas, delgadas y relativamente cortas, el axón disminuye en diámetro al bifurcarse, el núcleo es pequeño excéntrico, elipsoide con profundas interdigitaciones y nucleolo grande. Las neuronas de tamaño medio a grande tipo V presentan forma esférica u ovoide con las dendritas delgadas, el axón con múltiples colaterales, el núcleo excéntrico con profundas interdigitaciones. (Ver Tabla 3)

A diferencia del estudio anterior, Graveland y cols. (1985) reportaron en el neocórtex del humano la neurona espinosa tipo I como esférica, ovoide o piramidal, de $17 \mu\text{m}$ de diámetro con una densidad espinosa de 7.2 espinas/ $10 \mu\text{m}$, las espinas son de forma delgada (75 %), gruesa (15 %) y fungiforme (10 %). La neurona espinosa tipo II tiene las mismas características que Braak reportó. Sin embargo para Graveland la neurona espinosa tipo III corresponde a células pequeñas de $10 \mu\text{m}$ de diámetro de forma esférica u ovoide con 2-4 dendritas primarias y densidad de espinas y varicosidades variable, el axón corto se origina de la dendrita primaria o del soma. (Ver Tabla 4).

De los trabajos anteriores se deriva que el análisis de la citología del neocórtex es compleja estableciéndose diversas clasificaciones en las distintas especies y de acuerdo a los autores que realizaron el estudio. Aunque es posible distinguir

semejanzas notables entre las distintas descripciones, prevalecen serias diferencias en cuanto a la morfología neuronal y las divisiones en las distintas subpoblaciones reportadas.

Tabla 1. Tipos neuronales del estriado de la rata *

Tipo neuronal	Tamaño del soma	Forma	Dendritas primarias	Espinas dendríticas
I	30-60 μm	Poligonal Fusiforme	3-5	Escasas
II	30-60 μm	Poligonal Esférica Fusiforme	3-9	Escasas
I	25-35 μm	Poligonal	4-6	Gran densidad
II	25-35 μm	Poligonal	4-6	Poca densidad
III	25-35 μm	Poligonal	3-7	Escasas
IV	25-35 μm	Poligonal	4-6	Escasas
V	25-35 μm	Poligonal	3-5	Escasas
	5-10 μm	Esférica Fusiforme	3	Escasas

* Chang H.T. y cols. (1982)

Tabla 2. Tipos neuronales del estriado de mono *

Tipo neuronal	Tamaño del soma	Forma	Dendritas primarias	Espinas dendríticas
I				
Espinosa	25-35 μm	Triangular Esférica	Lisas	15 espinas en 10 μm
II				
Espinosa	25-35 μm	Triangular Ovoide	Lisas	5 espinas en 10 μm
I				
Sin espinas	25-35 μm	Esférica	Varicosas	-
II				
Sin espinas	30-60 μm	Ovoide	Varicosas	-
III				
Sin espinas	25-35 μm	Esférica	Varicosas	-
Neuro-gloforme	5-10 μm	Variable	Varicosas	-

* Pasik P. y cols. (1976)

Tabla 3. Tipos neuronales del estriado de humano *

Tipo neuronal	Tamaño del soma	Forma	Dendritas primarias	Espinas dendríticas
I				
Espinosa	25-35 μm	Poligonal Fusiforme	Radiadas	Robustas y numerosas
II				
Espinosa	25-35 y 30-60 μm	Triangular Fusiforme	Pocas	Pocas de tamaño y forma variable
III	30-60 μm	Multipolar Fusiforme	Pocas	Pocas en dendritas distales
IV				
Sin esp.	30-60 μm	Esférica	Varicosas	Pocas y pedunculadas
V				
Sin esp.	5-10 y 25-35 μm	Esférica Ovoide	Delgadas	-

* Braak H. y cols. (1982)

Tabla 4. Tipos neuronales del neocórtico de humano *

Tipo	Forma neuronal	Diámetro(μ m) del soma	Dendritas primarias	Dendritas secundarias
I				
Espinosa	Piramidal Esférica Ovoide	17	3-7	7.2 espinas en 10 μ m
II				
Espinosa	Triangular Fusiforme	18.6 25.0	2-4	1.5 espinas en 10 μ m
I				
Sin esp.	Esférica	15	2-5	Varicosas
II				
Sin esp.	Variable	33	3	Varicosas
Pequeño	Esférica	10	2-4	Varicosas

* Graveland G.A. y cols. (1985).

ORGANIZACION SINAPTICA DEL NEOESTRIADO

Como se mencionó, el neocóstriado muestra una gran complejidad morfológica, neuroquímica y neurofisiológica habiéndose descrito la organización sináptica de algunos tipos neuronales neocóstriales.

La neurona mediana densamente espinosa (NEsp I), constituye el 95 % de la población neuronal en el neocóstriado del gato (Kemp y cols. 1971). Chang y cols. (1981) identificaron, mediante la inyección intracelular de peroxidasa de rábano (HRP), que los axones que emergen de las neuronas NEsp I que proyectan al globo pálido. Por otra parte Somogyi y cols. (1981) realizaron una combinación de la técnica de Golgi y transporte retrógrado de HRP y reportaron que estas neuronas también proyectan a la sustancia nigra.

Además, las neuronas espinosas medianas emiten colaterales que establecen contactos sinápticos con el soma, las dendritas y las espinas de otras neuronas NEsp I (Wilson y cols. 1980). De esta forma se establecen los circuitos locales de inhibición lateral (Groves P.M. 1983), debido a que contienen GABA como neurotransmisor y por consiguiente actúan inhibitoriamente sobre las células blanco (Dubé y cols. 1987).

Estudios inmunocitoquímicos han demostrado, que las neuronas ultraestructuralmente similares a las NEsp I, contienen encefalinas (DiFiglia y cols. 1982) y sustancia P (Bolam y cols. 1983b).

Se han caracterizado tres aferencias principales a las neuronas NEsp I, a) la vía glutamatérgica corticoestriatal, b) la vía dopaminérgica nigroestriatal y c) de las

colaterales de las mismas neuronas NEsp I inmunoreactivas a GAD (Somogyi y cols. 1981a). Estudios electrofisiológicos, combinados con inyección de HRP, demostraron que las neuronas NEsp I, reciben aferencia monosináptica excitadora de la corteza (Kitai y cols. 1976) que posiblemente interactúa de forma antagónica con la aferencia catecolaminérgica (Carlsson y cols. 1990). Somogyi y cols. (1981), realizaron inyección de HRP en la sustancia nigra en animales con lesión ipsilateral de la corteza motora, y encontraron botones degenerados pertenecientes a las neuronas corticoestriatales las cuales establecen contacto asimétrico en la cabeza de las espinas de las dendritas proximales y distales de las neuronas, identificadas como estriatonigrales (NEsp I). Estas neuronas envían colaterales axónicas, formando sinapsis simétricas con otras neuronas NEsp I.

Freund y cols. (1984) demostraron que las aferentes dopaminérgicas, inmunoreactivas a la tirosina hidroxilasa, hacen contacto con las neuronas NEsp I, de las cuales el 59 % se realiza en el cuello de las espinas dendríticas, el 35 % en el espacio interespina y el 6 % en las dendritas proximales y en el cuerpo neuronal. Estas sinapsis son en pasant, simétricas y los botones sinápticos contienen grandes vesículas esféricas ó pleomórficas.

También se han identificado aferencias de botones sinápticos que contienen 5-hidroxitriptamina que realizan contacto asimétrico con las espinas dendríticas de las neuronas NEsp I (Pasik y cols. 1981). Además se ha reportado que los botones que contienen somatostatina, realizan contactos simétricos con las espinas dendríticas de dichas neuronas (DiFiglia et.al. 1982).

Un segundo tipo de neurona estriatonigral, que representa una pequeña proporción de neuronas estriatales se ha diferenciado en la porción ventral del neostriado de la rata mediante la técnica de HRP y corresponde a células grandes sin espinas dendríticas, con núcleo indentado y numerosos organelos (Bolam y cols. 1981b).

Bolam y cols. (1980), reportaron que las aferencias a estas neuronas consisten predominantemente de botones provenientes de axones colaterales de otras neuronas NESp I, que forman sinapsis simétricas. Además identificaron una pequeña proporción de contactos asimétricos en dendritas proximales y distales. Somogyi y cols. 1982 identificaron, encefalinas y glutamato descarboxilasa en dichos botones aferentes.

Bolam y cols. (1983a), reportaron mediante la administración de (3H) GABA, que en el neostriado de la rata existen interneuronas gabaérgicas. Estas neuronas fueron caracterizadas morfológicamente como lisas de tamaño medio, siendo que el núcleo puede poseer indentaciones. DiFiglia y cols. (1980) evidenciaron interneuronas con la misma morfología neuronal, con arborización axonal local.

El tipo de contacto sináptico que se establece en estas interneuronas, consiste principalmente de sinapsis simétricas en el pericarión y en las dendritas proximales, mientras que en las dendritas distales los contactos son asimétricos (DiFiglia y cols. 1980).

El análisis de los axones de las interneuronas gabaérgicas, muestran que sus botones realizan contactos simétricos con las espinas y las dendritas de neuronas

que corresponden probablemente a otras interneuronas gabaérgicas ó a las neuronas NEsp I (DiFiglia y cols. 1980).

Las interneuronas colinérgicas, corresponden a las neuronas más grandes del neocestriado (30-40 μm). Estas presentan dendritas largas y lisas, representando el 1.7% de la población neuronal estriatal (Phelps y cols. 1985). Las aferencias a estas interneuronas se establecen mediante botones que forman sinapsis asimétricas y simétricas. Las sinapsis asimétricas contienen pequeñas vesículas y son más abundantes en dendritas secundarias y terciarias. Las sinapsis simétricas contienen vesículas grandes esféricas y pleomórficas y son más comunes en el soma y en las dendritas proximales. Se ha demostrado que los botones inmunoreactivos a la sustancia P que se originan de las colaterales axónicas de las neuronas espinosas medianas, mantienen contacto simétrico con el pericarión y las dendritas proximales de las neuronas colinérgicas (Bolam y cols. 1983).

Las interneuronas colinérgicas, presentan campos dendríticos muy extensos (Bolam y cols. 1984), y se ha demostrado que sus axones realizan sinapsis simétricas con las dendritas proximales, distales, el cuerpo neuronal y las espinas dendríticas de las neuronas estriatonigrales NEsp I (Bolam y cols. 1986).

Las neuronas inmunoreactivas a somatostatina, corresponden a las interneuronas estriatales medianas que presentan dendritas largas y lisas así como extensas colaterales axónicas (DiFiglia y cols. 1982, Takagi y cols. 1983). En las dendritas proximales y el cuerpo neuronal de estas interneuronas se establecen contactos

asimétricos y simétricos, mientras que las dendritas distales presentan sinapsis asimétricas principalmente.

Los botones sinápticos de estas interneuronas, tienen vesículas grandes pleomórficas y forman contactos simétricos con las dendritas y las espinas de las neuronas estriatales (Takagi y cols. 1983).

Gerfen (1985) describió la organización del cuerpo estriado en compartimientos formados por los parches ó estriosomas y la matriz estriatal. Esta compartimentalización se establece de acuerdo a las características histoquímicas del estriado. Los estriosomas son porciones del estriado que contienen altas concentraciones de receptores a opiáceos (Wamsley y cols. 1982), así como de sustancia P e inmunoreactividad a las encefalinas (Graybiel y cols. 1981), pero baja actividad de la acetilcolinesterasa. Las neuronas NEsp I localizadas en los estriosomas proyectan hacia la porción compacta de la sustancia nigra y reciben sus aferencias de porciones profundas de la corteza motora (Smith y cols. 1990).

Complementando a esta organización, la matriz se diferencia por una alta actividad a la acetilcolinesterasa e inmunoreactividad a la somatostatina . Las neuronas NEsp I que se localizan en este compartimiento, proyectan a la parte reticulata de la sustancia nigra (Gerfen, 1985) y reciben aferencias de las capas superficiales de la corteza motora (Smith y cols. 1990).

Como se mencionó anteriormente, el neostriado presenta una gran complejidad neuroquímica, morfológica y neurobiológica, que es alterada de manera importante, en la enfermedad de Parkinson.

OBJETIVOS

Ha sido propuesto que la rigidez e hipocinesia, manifiestas en los pacientes con enfermedad de Parkinson, son resultado de la actividad anormal de las motoneuronas espinales gama, como consecuencia de la disfunción del núcleo caudado y del globo pálido (Watts 1975). El decremento en la concentración de la dopamina en el núcleo caudado, como consecuencia de la degeneración de las neuronas de la pars compacta de la sustancia nigra, es la aparente causa del origen de la bradicinesia.

Sin embargo existen evidencias de alteración en los niveles de neurotransmisores como: el GABA, la norepinefrina, la sustancia P, indicando que en esta enfermedad no sólo se afecta la vía dopaminérgica nigroestriatal.

Por otra parte existen evidencias de cambios degenerativos en el neuropilo del núcleo caudado de pacientes parkinsónicos (Machado y cols. 1990) lo que confirma la presencia de alteraciones morfológicas en los circuitos locales del neostriado.

Así nuestro primer objetivo fué:

Realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de las alteraciones ultraestructurales del neuropilo del cuadrante dorsomedial de biopsias de la cabeza del núcleo caudado de pacientes parkinsónicos y de sujetos sin daño neurológico de la misma edad.

Como se mencionó anteriormente, a pesar de las descripciones realizadas sobre la citología del núcleo caudado de diferentes especies, en el humano aún no está bien descrito las subpoblaciones celulares, ni la complejidad sináptica del neuropilo de dicho núcleo, por lo que fué indispensable establecer el segundo objetivo:

Realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de las subpoblaciones neuronales y de las porciones sinápticas del neuropilo del cuadrante dorsomedial del núcleo caudado del ser humano normal.

METODO

Se utilizó la técnica de Golgi para realizar el estudio citológico de las muestras del grupo control, debido a que dicha técnica permite observar la morfología neuronal. Por otra parte se utilizó la técnica convencional de microscopía electrónica de transmisión para realizar el estudio ultraestructural de las muestras de los grupos de pacientes parkinsonianos y el control.

Se estudiaron muestras de 1mm cúbico obtenidas del cuadrante dorsomedial de la cabeza del núcleo caudado de cuatro pacientes parkinsonianos de sexo masculino entre 37-65 años de edad, intervenidos quirúrgicamente para la realización del autotransplante autólogo de médula suprarrenal. Estos pacientes mostraron temblor, rigidez en forma bilateral y tres pacientes mostraron anomalías posturales. (Ver Tabla 5).

Asimismo se estudiaron muestras de 2 cm cúbicos obtenidas de 4 a 7 horas postmortem de la cabeza del núcleo caudado de cuatro pacientes del Hospital General de SSA, del sexo masculino entre 47-63 años de edad, sin daño neurológico (convenio con Neuropatología, H. G. SSA). (Ver Tabla 6).

Las muestras de los pacientes sin daño neurológico fueron considerados como controles para ser comparada la ultraestructura normal del neuropilo del núcleo caudado con las alteraciones degenerativas del núcleo caudado de los pacientes parkinsonianos. Las muestras del grupo control fueron procesadas con el método rápido de Golgi para estudiar la citología normal del núcleo caudado.

Obtención y fijación

La obtención de las muestras de los pacientes parkinsonianos (grupo experimental) se realizó durante la intervención quirúrgica; separando los hemisferios cerebrales, se seccionó el cuerpo caloso a 1 cm. de la línea media para llegar al ventrículo y tomar un fragmento del núcleo caudado: de la misma forma se obtuvieron las muestras entre 4 y 7 horas postmortem de los pacientes fallecidos (grupo control).

Una porción de las muestras obtenidas del grupo control se depositaron en formaldehído al 10 % en buffer fosfatos ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{Na}_2\text{HPO}_4$) durante 24 horas para su estudio citológico, y otra porción fué fijada por inmersión en glutaraldehído/paraformaldehído 2%:2% durante 24 horas para el estudio ultraestructural. Las muestras del grupo experimental fueron fijadas de la misma forma.

Estudio citológico

El estudio citológico se realizó solamente en las muestras control, debido a que por razones éticas no es posible obtener fragmentos mayores de 1 cm³ en los pacientes intervenidos quirúrgicamente.

Para el estudio citológico se utilizó la técnica de impregnación argéntica rápida y el fijador utilizado fué una mezcla de dicromato de potasio y ácido ósmico, lo que permitió abreviar considerablemente el tiempo de induración, reduciéndolo a 6 días.

Debido a que la técnica rápida muestra una delicadeza y difusión mucho más grande, ésta fué utilizada.

TABLA 5. Resumen de las características generales de los cuatro pacientes parkinsonícos que mostraron temblor y rigidez.

PACIENTE	EDAD	SEXO	AÑOS DE DESARROLLO	
P1	37	M	8	AFECCION BILATERAL SIN ANORMALIDADES POSTURALES
P2	65	M	8	AFECCION BILATERAL CON CIERTO DESEQUILIBRIO POSTURAL. EL ENFERMO PUEDE LLEVAR UNA VIDA INDEPENDIENTE
P3	48	M	8	AFECCION BILATERAL SIN ANORMALIDADES POSTURALES
P4	47	M	9	AFECCION BILATERAL CON DESEQUILIBRIO POSTURAL NECESITA AYUDA

TABLA 6. Resumen de las características generales de los cuatro pacientes control, sin daño neurológico.

CONTROL	EDAD	SEXO	HORAS POST-MORTEN	DIAGNOSTICO
C1	63	M	4.10	HEPATOCARCINOMA
C2	47	M	5.0	TUMOR DE KLASKY
C3	73	M	5.15	CARCINOMA GASTRICO
C4	48	M	7.05	TUMORES MIXTOS

Técnica rápida de Golgi

La técnica para la impregnación argéntica de los elementos del tejido nervioso básicamente constó de:

1) Induración del tejido

Esta parte es muy importante para que las muestras alcancen el grado de consistencia necesario para que el nitrato de plata pueda actuar lo mejor posible.

Las muestras ya fijadas fueron lavadas con buffer fosfatos y se sumergieron en una mezcla ósmico dicrómica (OsO₄ 1g, K₂Cr₂O₇ 8 g., H₂O 300 ml.) durante 7 días a temperatura ambiente, en la obscuridad. Se utilizaron 10 ml. de mezcla por cada pieza de 4 mm de lado.

2) Impregnación argéntica

Las muestras fueron lavadas rápidamente con agua destilada, después con nitrato de plata al 0.75 % y se dejaron 24 hrs en 50 ml. de solución acuosa de nitrato de plata al 0.75 %.

3) Corte

Para realizar los cortes, los fragmentos fueron limpiados del nitrato de plata con papel filtro y fueron encastrados en un bloque de parafina.

La parte libre de la muestra se bañó con alcohol de 95 %, y se realizaron los cortes a 120 μm , lubricando constantemente la navaja con alcohol.

Los cortes se recogieron en alcohol al 95 % y después se flotaron en dos baños de alcohol absoluto durante 30 min. cada uno. Posteriormente se llevaron los cortes a eugenol donde permanecieron 20 min. para ser aclarados. Seguidamente se hicieron dos cambios rápidos en xilol para finalmente proceder al montaje en un portaobjetos con resina sintética.

Los cortes se observaron en un fotomicroscopio Zeiss y se realizó un análisis cualitativo y cuantitativo de las poblaciones neuronales del núcleo caudado; en el que se analizó:

Morfología celular

Diámetro del eje mayor y menor del cuerpo celular

Longitud dendrítica

Distancia a la primera bifurcación

Distancia a la primera espina

Número de espinas dendríticas en 10 μm .

Técnica de microscopía electrónica de transmisión

Las muestras se seccionaron en fragmentos de 1mm cúbico se lavaron con buffer cacodilato de sodio 0.1 M pH, 7.3 y se posijaron con tetraóxido de osmio al 1 % durante 1.30 hrs. Posteriormente se lavaron con buffer cacodilato y se procedió a la deshidratación, con alcoholes de concentración 50%, 60%, 70%, 80%, 96% y 100%) manteniéndolos 10 min. en cada cambio. Después de realizar dos cambios en tolueno, los fragmentos se infiltraron durante una hora en una mezcla 1:1 de resina araldita -tolueno a 60°C. Se mantuvieron toda la noche en una mezcla 3:1 de araldita-tolueno a temperatura ambiente. Los fragmentos ya infiltrados se incluyeron en araldita pura a 60° C durante 24 hrs.

Una vez polimerizada la resina, se procedió a realizar en un ultramicrotomo Reichert-Jung los cortes finos de 900 Å de grosor utilizando cuchillas de vidrio, montándolos en rejillas de cobre para contrastarlos con acetato de uranilo al 5 % durante 20 min. y con citrato de plomo 0.4 % por 5 min.

Los cortes se observaron en un microscopio electrónico de transmisión Jeol Jem 100 CX II y se realizó un análisis ultraestructural midiendo directamente en la pantalla del microscopio las dimensiones de los botones sinápticos.

Las variables que se analizaron en el estudio ultraestructural de los botones sinápticos de las muestras de los cuatro pacientes parkinsonícos y los cuatro control, fueron las siguientes:

-Diámetro del eje mayor y menor de la porción presináptica

-Distribución vesicular

La cantidad y distribución vesicular en los botones sinápticos analizados fueron clasificados como sigue:

Distribución vesicular I a: corresponde a botones con muchas vesículas contenidas en más del 50% del citoplasma del botón, distribuidas en forma dispersa en el axoplasma como lo muestra la figura 13.

Distribución vesicular I b: corresponde a botones con pocas vesículas contenidas en menos del 50% del citoplasma del botón, distribuidas en forma dispersa en el axoplasma. (Ver Figura 14).

Distribución vesicular II a: corresponde a botones con muchas vesículas, dispuestas en forma concentrada en la porción sináptica o bien cercana al centro del botón. (Ver Figura 15).

Distribución vesicular II b; corresponde a botones con pocas vesículas concentradas en la porción sináptica o bien cercana al centro del botón. (Ver Fig. 16).

Distribución vesicular III; corresponde a botones con muchas vesículas concentradas en la porción sináptica y dispersas en el axoplasma. (Ver Fig. 17).

-Presencia de organelos

-Evidencia de contacto sináptico

-Presencia de contacto simple ó doble

-Presencia de sinapsis axodendrítica y axoespinosa

Para el análisis estadístico se utilizó el análisis de varianza y la prueba de Tukey para las mediciones realizadas de los botones sinápticos y la prueba de Fisher para la distribución vesicular.

RESULTADOS

Estudio citológico

El tejido procesado con la técnica de Golgi, fué analizado para realizar el estudio de las subpoblaciones neuronales del cuadrante dorsomedial del núcleo caudado de los sujetos controles.

Morfología celular

Se analizaron 585 neuronas de los 4 sujetos. El 77.95 % correspondió a las neuronas espinosas (NEsp), y el 22.05 % a las neuronas lisas.

La población de neuronas espinosas encontrada fué de dos tipos; a las que se denominó neurona espinosa tipo I (NEspI) la cual presentó gran densidad espinosa (Ver Fig. 1), constituyendo el 82.67 %, y las neuronas espinosas tipo II (NEspII) con poca densidad espinosa (Ver Fig. 2), las que sumaron el 17.32 %.

Asimismo se identificó una población de neuronas sin espinas dendríticas, que se denominó neuronas lisas de tamaño mediano (LM) de 22 μm de diámetro y que fueron el 69 % de este tipo celular (Ver Fig. 3). Se identificó también una población de neuronas lisas de tamaño grande (LG) de 45 μm de diámetro que conformaron el 31 % de la población (Ver Fig 4).

Las neuronas NEspI mostraron dendritas primarias, secundarias y terciarias, las dos últimas con gran densidad espinosa (Ver Tabla 1). El cuerpo neuronal mostró

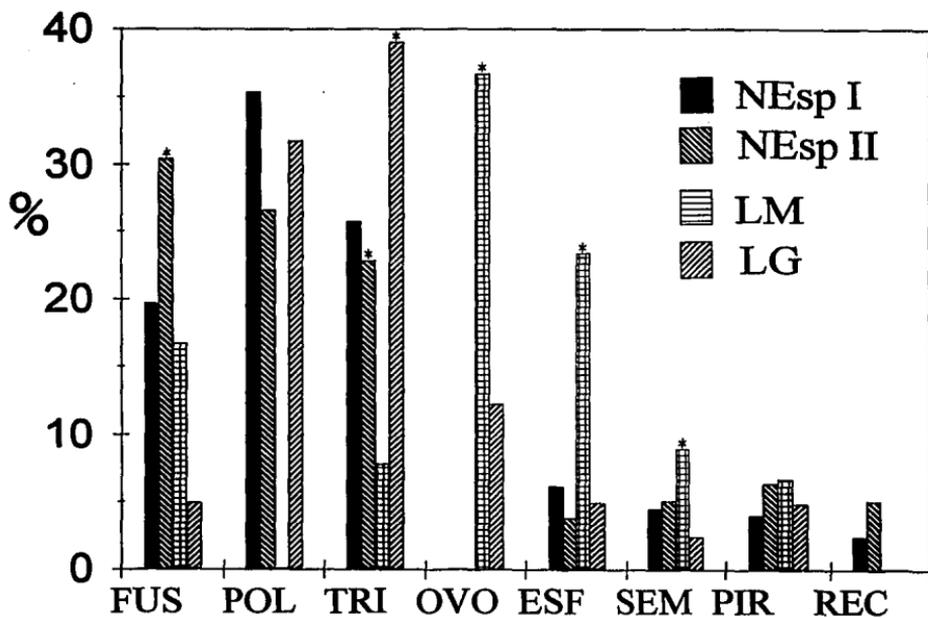
diferentes morfologías; la forma predominante fué la poligonal 35.28 % (Ver Fig. 5) seguida por la triangular 28.18 % (Ver Fig. 6); la fusiforme 19.63 %, y las formas menos frecuentes fueron la esférica 6.1 %, la semilunar 4.5 %, la piriforme 3.98 % y la rectangular 2.39 %. (Ver Gráfica 1).

Las neuronas NEspII presentaron dendritas secundarias y terciarias con baja densidad espinosa (Ver Tabla 1) y a diferencia con la NEspI, la forma predominante fué la fusiforme 30.38 % (Ver Fig. 7) y la poligonal 26.58% (Ver Fig. 8) seguidas por la triangular 22.78 % siendo las menos frecuentes, la piriforme 6.33 %, la semilunar, la rectangular 5.06 % y por último la esférica 3.8% (Ver Gráfica 1).

Las neuronas LM mostraron dendritas secundarias y terciarias lisas dispuestas en forma concéntrica. La forma del cuerpo neuronal más frecuente fué la ovoide 36.67 % (Ver Fig. 9) y la esférica 23.33 %, seguidas por la fusiforme 16.6 %, la semilunar 8.89, la triangular 7.78 %, y la piriforme 6.67 %. (Ver Gráfica 1).

Las neuronas LG correspondieron a las neuronas grandes del núcleo caudado, descritas anteriormente por Chang y cols. en 1982. Estas mostraron dendritas secundarias y terciarias largas y lisas. Las formas celulares más frecuentes fueron la triangular 39.02 % y la poligonal 31.71 % (Ver Fig. 10), seguidas por la ovoide 12.19 %, y las formas fusiforme, piriforme y esférica 4.89 % y por último la semilunar 2.44%. (Ver Gráfica 1).

En la gráfica 1 se pueden observar los porcentajes de las diferentes formas de las subpoblaciones neuronales espinosas y lisas, observadas en el núcleo caudado normal; nótese la predominancia de las formas poligonal y triangular para las neuronas



GRAFICA 1. Porcentajes de las formas celulares encontradas en los grupos de neuronas del núcleo caudado humano: espinosas medianas tipo I (NEsp I), espinosas medianas tipo II (NEsp II), lisas medianas (LM) y lisas grandes de sujetos normales. Abr: Fus=fusiforme, Pol=polygonal, Tri=triangular, Ovo=ovoide, Esf=esférica, Sem=semilunar, Pir=piriforme y Rec=rectangular. * <math>P < 0.05</math>.

NEspl, NEspll y LG, mientras que las esféricas y las ovoides predominan en las neuronas LM.



Fig. 1 Fotografía de una neurona espinosa mediana tipo I del núcleo caudado humano. Dendritas secundarias y terciarias con gran densidad espinosa. 10 X



Fig. 2 Fotografía de una neurona espinosa mediana tipo II del núcleo caudado humano. Dendritas con pocas espinas. 10X.



Fig. 3 Fotografía de una neurona lisa mediana (LM) del núcleo caudado humano. Cuerpo neuronal esférico, dendritas primarias lisas, secundarias y terciarias con varicosidades. 10X.

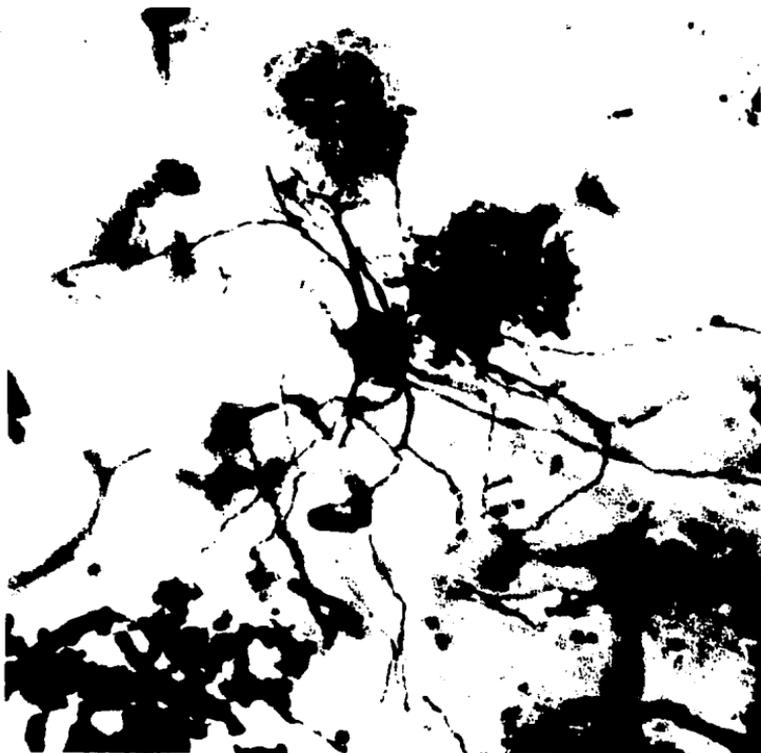


Fig. 4 Fotografía de un neurona lisa grande (LG) del núcleo caudado humano, con dendritas y pericarión sin espinas. 10 X.



Fig. 5 Fotografía de una neurona espinosa mediana tipo I del núcleo caudado humano de forma poligonal, con cuatro dendritas que emergen del pericarión. 10 X.

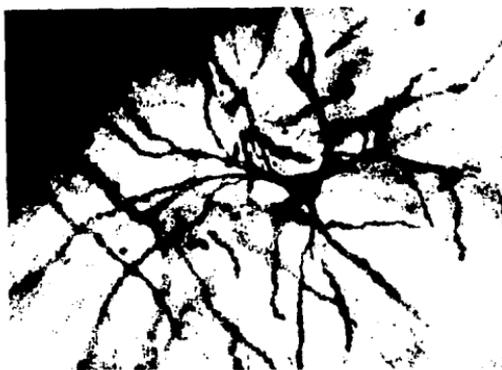


Fig.6 Fotografía de una neurona espinosa mediana tipo I del núcleo caudado humano, de forma triangular, con tres dendritas primarias y pericarión sin espinas. 10 X.



Fig.7 Fotografía de un neurona espinosa mediana tipo II fusiforme del núcleo caudado humano con dos dendritas proximales que emergen del pericarión y dendritas distales con baja densidad espinosa. 10 X.

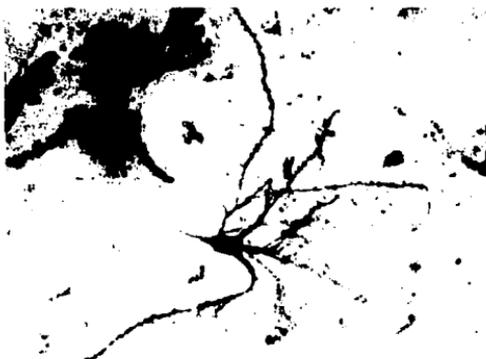


Fig. 8 Fotografía de una neurona espinosa mediana tipo II poligonal, del núcleo caudado humano con cuatro dendritas primarias y cono axónico evidente. 10 X.

Análisis cuantitativo de las neuronas del núcleo caudado humano.

Las neuronas NEspl, NEspll y LM correspondieron a células medianas ya que el diámetro del eje mayor del cuerpo neuronal fué de 22-25 μm . Las neuronas LG tuvieron dimensiones promedio de 45.45 μm . La distancia entre las dendritas distales (distancia medida entre las porciones distales de las dendritas terciarias) fué muy variable para las cuatro poblaciones observadas, el campo dendrítico menor fué el de la neurona LM. La distancia a la primera bifurcación fué semejante en las neuronas NEspl, NEspll y LM mientras que en las neuronas LG dicha distancia fué mayor. Los resultados de las mediciones realizadas en las cuatro subpoblaciones neuronales se resumen en la tabla 7.

En las neuronas espinosas se midió la distancia del centro del cuerpo neuronal a la primera espina dendrítica. Esta distancia fué similar en la NEspl y la NEspll (43.22 μm y 43.67 μm respectivamente). La espina más cercana al cuerpo neuronal, se observó en las dendritas secundarias. (Ver Tabla 7).

También se contó el número de espinas dendríticas presentes sobre una distancia de 10 μm en las dendritas secundarias y terciarias. Corroborando los reportes de otros autores (Graveland y cols. 1985), encontramos mayor número de espinas en las dendritas terciarias que en las secundarias. El número promedio de espinas en 10 μm en dendritas secundarias de las neuronas NEspl fué de 6.39 y de 4.8 para las

neuronas NEspII, mientras que para las dendritas terciarias fué de 8.29 y 5.28 respectivamente. (Ver Tabla 7). En la figura 11 pueden observarse dos dendritas terciarias de neuronas espinosas NEsp I (a) y NEsp II (b) donde se puede distinguir la diferencia en la densidad espinosa.



Fig. 9 Fotografía de una neurona mediana lisa (LM) ovoide del núcleo caudado humano. 10 X

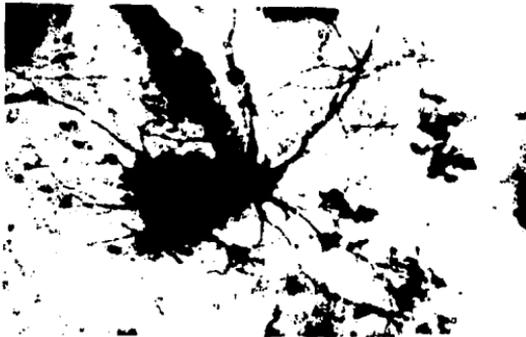


Fig. 10 Fotografía de una neurona grande lisa (LG) poligonal del núcleo caudado humano. 10 X



A



B

Fig. 11 Fotografías de dos dendritas del núcleo caudado humano, pertenecientes a neuronas medianas espinosas I (A) y II (B). 40X

TABLA 7. Resumen de las mediciones realizadas en las cuatro poblaciones neuronales del núcleo caudado humano.

	NEspl	NEspli	LM	LG
EJE MAYOR (μm)	24.44 \pm 2.2	24.51 \pm 5.2	22.11 \pm 1.6	45.15* \pm 1.1
EJE MENOR (μm)	17.05 \pm 1.9	16.89 \pm 3.9	15.89 \pm 1.4	34.73* \pm 1.9
LONGITUD DENDRITICA (μm)	453.37 \pm 4.7	395.3 \pm 9.5	303.1* \pm 8.4	508.76 \pm 19.5
DIS-TANCIA A LA 1a. BIFUR-CACION (μm)	23.92 \pm 2.6	24.56 \pm 6.2	27.66 \pm 1.9	40.97* \pm 1.9
DIS-TANCIA A LA 1a. ESPINA (μm)	43.22 \pm 4.1	43.67 \pm 8.6		
# DE ESPINAS EN 10 μm DENDRITAS SECUNDARIAS	6.39 \pm 0.88	4.84 \pm 0.41		
# DE ESPINAS EN 10 μm DENDRITAS TERCIARIAS	8.29 \pm 0.94	5.28 \pm 0.53		

Los valores corresponden a la media + error standar * < 0.05

Alteraciones ultraestructurales del neuropilo de núcleo caudado de pacientes parkinsónicos.

En las muestras analizadas se observaron evidentes cambios degenerativos en los cuatro casos estudiados. Todos ellos mostraron degeneración neuronal caracterizada por la presencia de núcleos distorsionados y citoplasma denso con cisternas dilatadas de retículo endoplásmico liso, reacción glial y axones degenerados.

El paciente de 37 años (P1) mostró residuos de neuronas degeneradas y evidente degeneración neuronal caracterizada por la presencia de vacuolas y gránulos de lipofucsina así como, vacuolas de retículo endoplásmico liso y rugoso. Los botones sinápticos de este paciente mostraron vacuolas multiformes y gran número de vesículas esféricas y ovoides. Las dendritas presentaron vacuolas de retículo endoplásmico liso, neurotúbulos, neurofilamentos y mitocondrias.

En cuanto a la sinaptología de los cuatro pacientes se observaron contactos axodendríticos, axoespinosos y axosomáticos.

El paciente de 65 años (P2), mostró neuronas degeneradas con abundantes gránulos de lipofucsina (Ver Fig. 12) y axones degenerados. Los botones sinápticos del paciente presentaron aumento de tamaño y organelos como mitocondrias, vesículas sinápticas esféricas y ovoides, dendritas con retículo endoplásmico liso y citoplasma en su mayoría normal, aunque algunas mostraron diferente grado de degeneración.

El paciente de 48 años (P3), mostró neuronas degeneradas asociadas con astrocitos, así como axones degenerados con fagocitosis mielínica. Los botones sinápticos presentaron mitocondrias, vesículas sinápticas esféricas y ovoides y algunos mostraron procesos degenerativos como la presencia de vacuolas, también se observaron neuritas con diferente grado de degeneración, caracterizada por la presencia de citoplasma denso y vacuolas, Estas neuritas corresponden a dendritas de neuronas del núcleo caudado. Se observó que el 80 % de las dendritas en proceso de degeneración estaban asociadas principalmente a botones sinápticos aparentemente normales (90%).

El paciente de 47 años (P4), mostró neuronas degeneradas asociadas con astrocitos, así como axones degenerados con dilataciones, botones sinápticos en proceso de degeneración con mitocondrias vacuoladas, En este paciente no se encontraron neuritas densas como en P2 y P3.

Al comparar las alteraciones patológicas en los cuatro pacientes parkinsónicos pudimos observar que existe degeneración en las neuronas, axones, botones sinápticos y en los pacientes 2 y 3 se detectaron evidentes alteraciones ultraestructurales en las dendritas.

A diferencia del grupo experimental, en el grupo control no se observaron signos degenerativos de las neuronas ni de las porciones pre y postsinápticas.

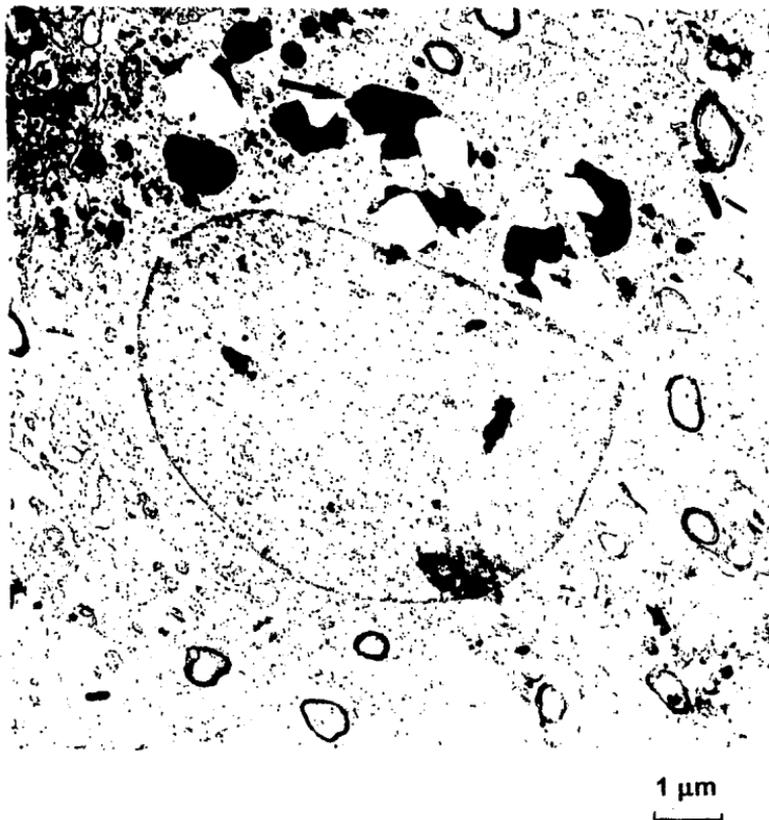


Fig. 12 Micrografía de una neurona del neuropilo del núcleo caudado de un paciente parkinsoniano (P3). Neurona con núcleo deforme con cromatina laxa y citoplasma con gran cantidad de gránulos de lipofuscina♣.

Dimensiones del botón presináptico.

Se realizó un análisis cuantitativo de las dimensiones de los botones sinápticos del neuropilo del núcleo caudado normal y de los pacientes parkinsonianos, midiéndose el eje mayor y menor de 100 botones sinápticos por sujeto en la pantalla del microscopio.

Al realizar las mediciones de los botones sinápticos de los pacientes parkinsonianos se distinguió que los tamaños de los botones (eje mayor) oscilaron entre 400 y 2400 nm. a diferencia del grupo control que oscilaron entre 200 y 1900 nm.

La longitud promedio de los ejes mayor y menor de los 100 botones sinápticos asociados a una porción postsináptica de cada paciente parkinsoniano se resumen en la tabla 8. Estos valores fueron comparados con los obtenidos de las cuatro muestras control (Ver Tabla 8).

En la gráfica 2 se representan las dimensiones de los botones sinápticos. En la gráfica 2 A puede observarse la curva de las muestras control (círculos) y la curva de las muestras de los pacientes parkinsonianos (cuadrados). La gráfica muestra que la curva de los pacientes, está desplazada hacia la derecha, lo que indica que los botones sinápticos del núcleo caudado de pacientes parkinsonianos, son de mayor tamaño $X = 1362.99 \text{ nm} \pm 65.98$ que el grupo control $X = 1055.88 \text{ nm} \pm 109.85$ ($p < 0.05$).

Al compararse los valores del eje menor de los botones sinápticos controles y parkinsonianos encontramos que la $X = 961.06 \text{ nm} \pm 80.56$ para los pacientes, mientras

TABLA 8. Dimensiones de los botones sinápticos (eje mayor y menor) del núcleo caudado de los pacientes parkinsonianos. n=100 para cada paciente.

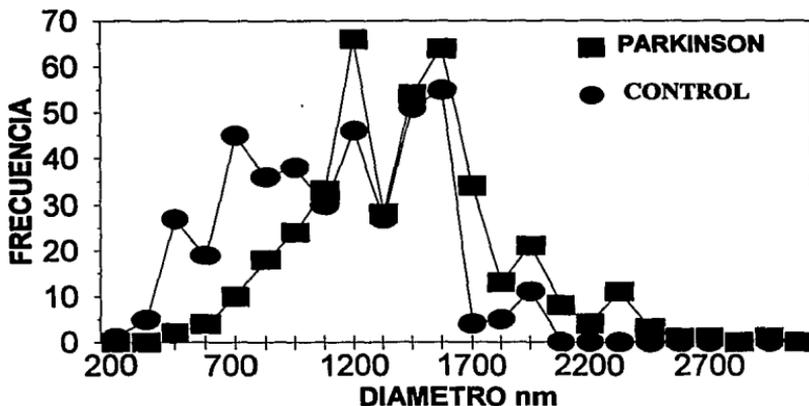
PACIENTE	EJE MAYOR(nm)	ERROR ST.	EJE MENOR(nm)	ERROR ST.
P1	1286.36	35.43	844.43	28.67
P2	1404.48	42.13	994.79	35.8
P3	1448.41	43.21	1064.89	36.93
P4	1312.74	35.04	940.12	31.05
X	1362.99	65.98	961.06	80.56

Dimensiones de los botones sinápticos (eje mayor y menor) del núcleo caudado de los sujetos control. n=100 para cada caso.

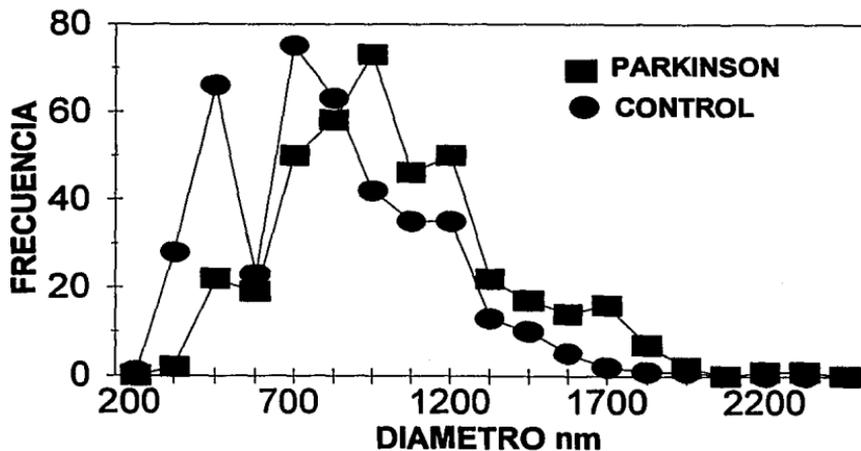
CONTROL	EJE MAYOR(nm)	ERROR ST.	EJE MENOR(nm)	ERROR ST.
1	1217.58	38.36	895.79	33.30
2	912.17	35.02	646.24	26.54
3	1072.48	35.32	756.73	28.70
4	1021.28	40.46	724.81	34.79
X	1055.88	109.85	755.89	90.22

DIAMETRO DEL BOTON SINAPTICO

EJE MAYOR



EJE MENOR



GRAFICA 2. Representación gráfica de las frecuencias observadas del diámetro del eje mayor y del eje menor de los botones sinápticos de los grupos control y parkinsonico.

que para el grupo control fué de $X = 755.89 \text{ nm} \pm 90.22$ ($p < 0.05$). En la gráfica 2B se puede observar que la curva de los pacientes también está desfasada hacia la derecha con respecto a la curva control.

El análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los valores de los ejes mayor y menor entre ambos grupos. La prueba de Tukey mostró diferencias significativas del eje mayor entre los pacientes 1 y 2, y 1 y 3; y para el eje menor entre los pacientes 1 y 3, y 3 y 4.

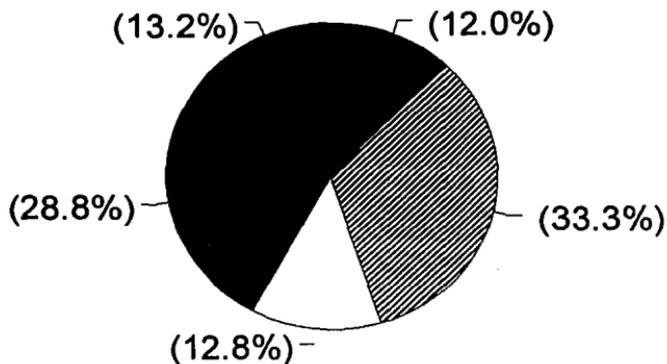
Distribución vesicular

Se realizó un análisis cualitativo de los cinco tipos de distribución vesicular de los botones sinápticos de los pacientes parkinsonícos y al compararse entre sí se encontraron diferencias significativas $p < 0.05$ entre ellos, excepto entre los casos P2 y P1 y entre P4 y P2.

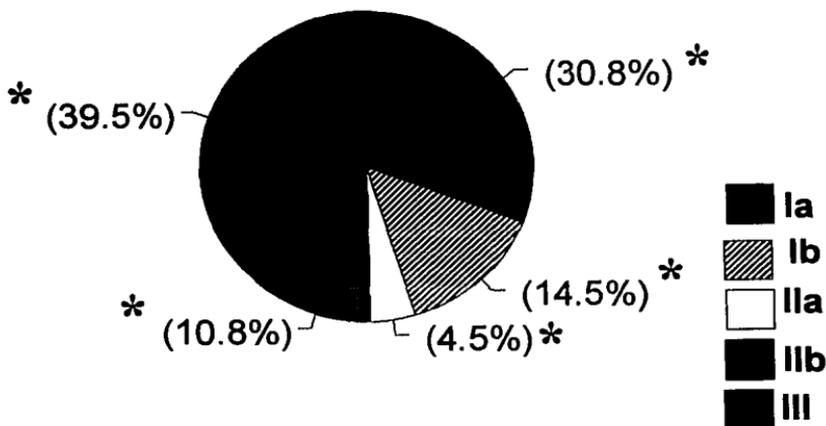
Al realizar el análisis de los cinco tipos de distribución vesicular del grupo control y compararse entre sí no se encontraron diferencias significativas, excepto en la distribución vesicular tipo Ia de los sujetos 2 - 3 y 2 - 4.

Por otra parte al compararse los porcentajes globales de las cinco distribuciones de los sujetos control, con los porcentajes globales de los pacientes parkinsonícos se encontraron diferencias significativas $p < 0.05$.

DISTRIBUCION VESICULAR CONTROL



PACIENTES PARKINSONICOS



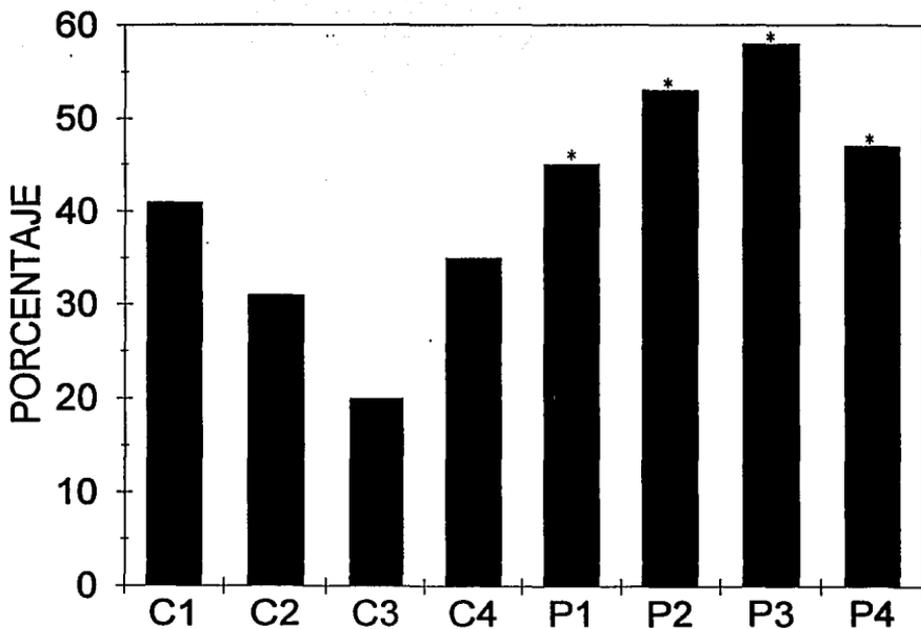
GRAFICA 3. Gráficas de los porcentajes de las diferentes distribuciones vesiculares de los grupos control y parkinsonico. * < 0.05

Se puede observar en la gráfica 3 los porcentajes globales de las diferentes distribuciones vesiculares de los botones sinápticos de los pacientes parkinsónico y del grupo control, se puede distinguir claramente que en el grupo control los tipos de distribución vesicular más frecuentes fueron los I b y II b (Ver Fig. 19) y los tipos de distribución I a, II a y III son bastante similares mientras que en los pacientes las distribuciones tipo I a y III son las predominantes (Ver Fig. 13 y 18) y las menos frecuentes fueron las I b, II a y II b.

Presencia de mitocondrias

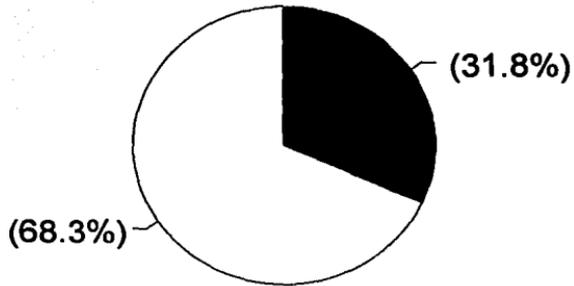
Otra variable que se analizó en ambos grupos, fué la presencia de mitocondrias en los botones sinápticos. En la gráfica 4 se representan los porcentajes de los botones con mitocondrias de los controles y de los pacientes parkinsónicos. El grupo control mostró mitocondrias en el 31.75 ± 7.66 % de los botones, mientras que en el grupo de los pacientes parkinsónicos fué de 50.75 ± 5.11 %.

En la gráfica 5 se representan los porcentajes de los botones sinápticos que presentaron mitocondrias de ambos grupos. Se puede distinguir que el mayor número de botones de los pacientes parkinsónicos mostraron mitocondrias existiendo diferencias significativas $p < 0.05$.

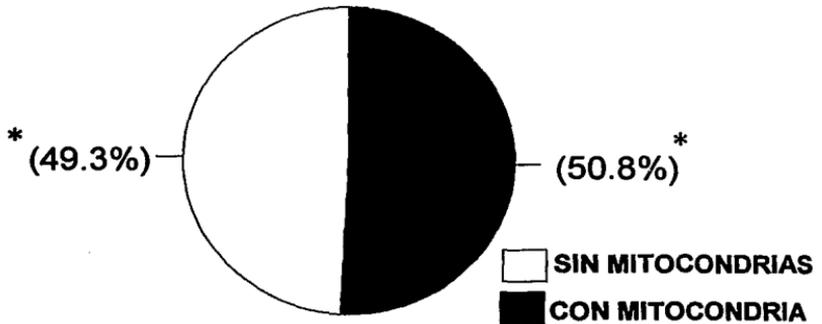


GRAFICA 4. Histograma de las frecuencias representando la presencia de organelos en la porción presináptica de los sujetos normales (C 1, 2, 3 y 4) y de los pacientes parkinsoníacos (P 1, 2, 3, y 4) * < 0.05.

CONTROL



PACIENTES PARKINSONICOS



GRAFICA 5. Gráficas de los porcentajes de la presencia de mitocondrias en los botones sinápticos de los grupos control y parkinsonico. * < 0.05



Fig. 13 Micrografía de una sinapsis axoespinosa del núcleo caudado de un paciente con enfermedad de Parkinson. Botón sináptico con gran cantidad de vesículas dispersas (distribución vesicular I a), haciendo doble contacto sináptico con una espinas dendrítica, con evidente aparatado espinoso \blacktriangle .

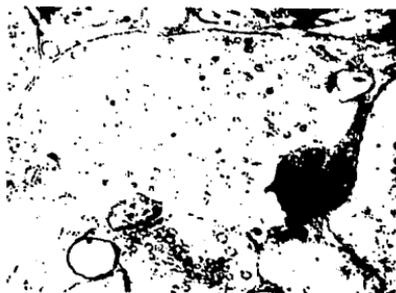


Fig. 14 Micrografía de un botón sináptico del núcleo caudado de un paciente con enfermedad de Parkinson, con pocas vesículas sinápticas dispersas en el axoplasma (distribución vesicular I b).

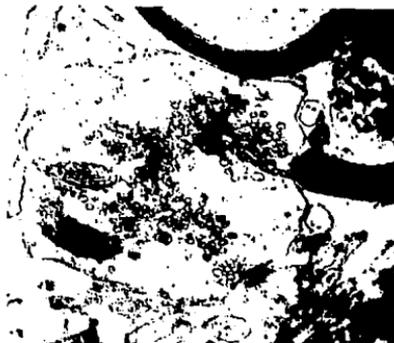
0.2 μm

Fig. 15 Micrografía de un botón sináptico del núcleo caudado de un paciente parkinsoniano, con muchas vesículas sinápticas concentradas en el axoplasma mostrando la distribución vesicular II a.

0.25 μm

Fig. 16 Micrografía de un botón sináptico del núcleo caudado de un paciente parkinsoniano con pocas vesículas sinápticas concentradas en la porción excéntrica del axoplasma mostrando la distribución vesicular II b.



0.1 μm

Fig. 17 Micrografía de una sinapsis axoespinosa de núcleo caudado normal. Botón sináptico con vesículas concentradas en la porción sináptica y dispersas en el axoplasma mostrando la distribución vesicular tipo III. Nótese la evidente hendidura sináptica \blacktriangle .



0.1 μ m

Fig. 18 Micrografía de un botón sináptico del núcleo caudado de un paciente con enfermedad de Parkinson, con distribución vesicular mixta, haciendo contacto sináptico con una neurita densa.



0.1 μ m

Fig.19 Micrografía de un botón sináptico del núcleo caudado normal con distribución vesicular II b.

Tipo de contacto sináptico

De las sinapsis analizadas en ambos grupos se observaron contactos simples como lo muestra la Fig. 20 ó dobles mostrados en la Fig. 21. Todas las sinapsis presentaron vesículas esféricas y ovoides en la porción presináptica. Así como espacio sináptico y densidad en la porción postsináptica, que corresponde a la presencia de receptores.

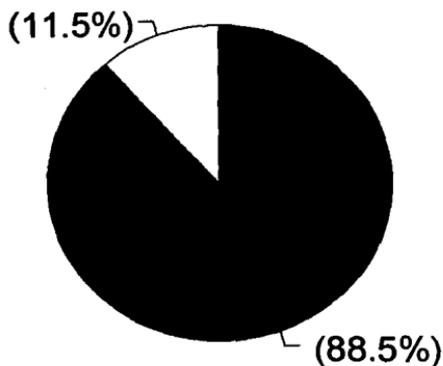
En la gráfica 6 se representan los porcentajes de los contactos simples y dobles de los pacientes parkinsonícos y de los controles. El grupo control mostró 354 botones con contacto simple y 46 fueron dobles, mientras que en el grupo experimental, 319 fueron simples y 81 dobles. No existe diferencia significativa entre los cuatro controles, ni entre los cuatro experimentales. Sin embargo al comparar ambos grupos existe diferencia significativa de $p < 0.05$.

Análisis de la porción postsináptica

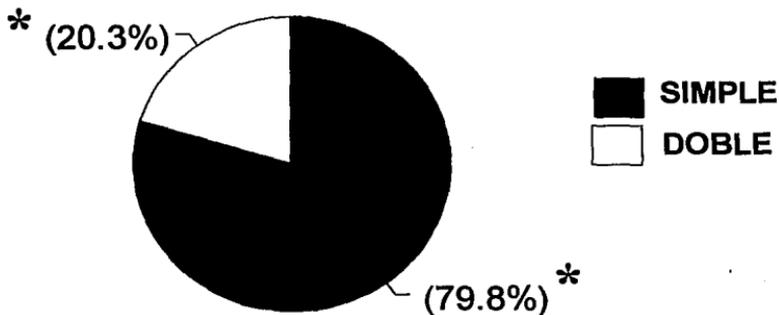
Al analizar la porción postsináptica de los pacientes parkinsonícos encontramos grandes diferencias entre los cuatro pacientes parkinsonícos.

El paciente 3 presentó neuritas densas, que corresponden a dendritas degeneradas que mostraron vacuolas y mitocondrias (Ver Fig. 22 y 23). Este hallazgo es muy importante, debido a que estas neuritas degeneradas pertenecen a neuronas del núcleo caudado y realizan contacto con botones morfológicamente normales.

TIPO DE CONTACTO SINAPTICO CONTROL



PACIENTES PARKINSONICOS



GRAFICA 6. Gráficas de los porcentajes de los contactos simples y dobles de los grupos control y parkinsonico. * < 0.05

A diferencia del paciente 3, el paciente 2 mostró muy pocas dendritas degeneradas; mientras que en los pacientes 1 y 4 no se observaron evidencias de degeneración postsináptica.

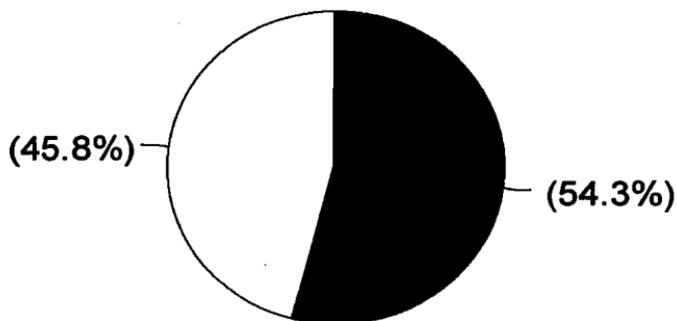
Otra característica que se analizó en los grupos parkinsonico y normal fué si los botones sinápticos realizaban contacto sináptico con espinas (Ver Fig. 24) ó con dendritas (Ver Fig. 25).

En la gráfica 7 se representan los porcentajes de los contactos realizados en dendritas o en espinas, de los sujetos control y de los parkinsonicos; nótese que estos últimos presentaron mayor número de contactos axodendríticos que el grupo control. Aplicando la prueba de Fisher a las frecuencias de ambos grupos, se encontró que en el grupo control 217 botones hicieron contacto con dendritas y 183 con espinas, mientras que en los parkinsonicos 292 con dendritas y 108 con espinas, con una diferencia significativa de $p < 0.005$.

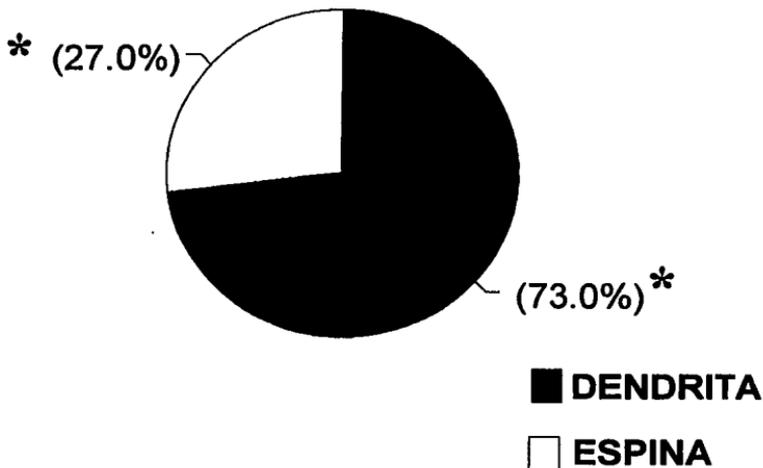
Se han reportado (Tarrant y cols. 1977) la presencia de espínulas en el hipocampo de rata que son invaginaciones de la membrana dendrítica en el sitio de contacto sináptico; un hallazgo importante que observamos fué la presencia de una o dos espínulas en algunas sinapsis de los pacientes parkinsonicos (Ver Fig. 26) a diferencia del grupo control que no mostró dichas estructuras.

El paciente 3 presentó el 24 % de los botones con espínulas, el paciente 4 el 10% y los pacientes 1 y 2; el 3 y 5 % respectivamente.

ESTRUCTURA POSTSINAPTICA CONTROL



PACIENTES PARKINSONICOS

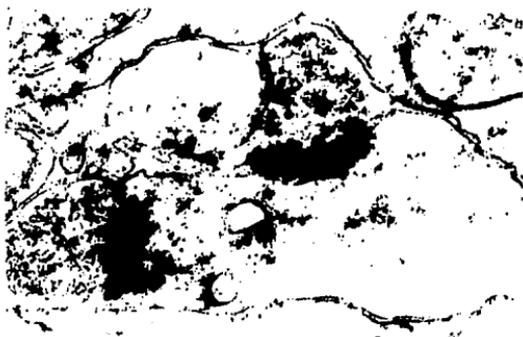


GRAFICA 7. Gráficas de los porcentajes de los contactos axoespinosos y axodendríticos de los grupos control y parkinsonico. * < 0.05.



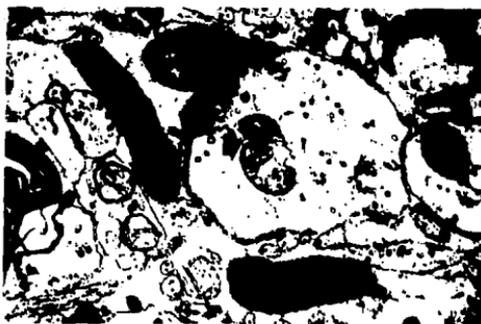
0.25 μm

Fig.20 Micrografía de una sinapsis axoespinosa del núcleo caudado normal formando un contacto simple. Botón sináptico con muchas vesículas y una mitocondria \blacktriangle .



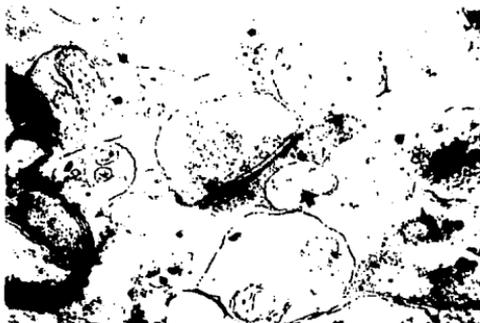
0.25 μm

Fig.21 Micrografía de dos sinapsis axodendríticas del núcleo caudado. Ambos botones realizan contacto con la misma dendrita, la que muestra evidente densidad postsináptica \blacktriangle .



0.25 μm

Fig.22 Micrografía de una dendrita degenerada, de un paciente parkinsoniano, realizando sinapsis con un botón sináptico con pocas vesículas y dos mitocondrias \uparrow .



0.2 μm

Fig.23 Micrografía de una dendrita degenerada de un paciente parkinsoniano con una vacuola, que hace contacto simple con un botón sináptico con densidad postsináptica y vesículas.



0.25 μm

Fig.24 Micrografía de una sinapsis axoespinosa del núcleo caudado normal. Botón sináptico con vesículas esféricas y ovoides. Espina fungiforme con aparato espinoso y densidad postsináptica \blacktriangle .



0.1 μm

Fig.25 Micrografía de una sinapsis axodendrítica del núcleo caudado normal. Botón sináptico con vesículas esféricas y ovoides, una de ellas con corazón denso \blacktriangle . Dendrita con neurotúbulos.



0.1 μ m

Fig.26 Micrografía de una sinapsis axoespinosa de un paciente parkinsoniano, con una espínula prominente que muestra densidad postsináptica. Espina con aparato espinoso. Botón sináptico con muchas vesículas esféricas y ovoides.

DISCUSION

Los resultados del análisis citológico de las muestras del núcleo caudado normal, evidenciaron diferentes patrones morfológicos para las cuatro poblaciones neuronales encontradas.

Neurona espinosa tipo I

Las neuronas identificadas en este estudio como NEsp I concuerdan con las descripciones de estudios previos realizados con el método de Golgi por Kemp y cols. y Fox y cols. 1971 quienes establecieron que el 95 % de las neuronas estriatales de gato, lo constituyen la población de las neuronas espinosas medianas, a diferencia de nuestros valores que el porcentaje fué menor (77.95 %) , esta diferencia se puede deber a las diferentes modificaciones que existen en la técnica de Golgi.

Con respecto a la morfología celular, encontramos que las formas predominantes fueron las mismas a las reportadas por Braak y cols. (1982) y Graveland y cols. (1985) en el neocórtex del humano. A diferencia de estos autores, nuestros resultados mostraron otras formas neuronales: la semilunar, la piriforme y la rectangular, lo que nos indica que dentro de cada población existen subpoblaciones con diferente morfología neuronal.

Por otra parte los valores de las dimensiones del soma neuronal obtenidas en nuestro estudio fueron mayores ($24.44 \mu\text{m}$) a los reportados por Graveland y cols. ($17 \mu\text{m}$). Esto podría deberse a que probablemente dichos autores realizaron las mediciones neuronales del eje menor, debido a que nuestros valores del eje menor y los reportados por dichos autores son muy semejantes. Con respecto a nuestros valores, la longitud dendrítica, esta fué mayor en las neuronas espinosas medianas tipo I ($453.37 \mu\text{m}$) comparandolas con las neuronas espinosas tipo II ($395.3 \mu\text{m}$) y las neuronas lisas medianas ($303.1 \mu\text{m}$).

Nuestro promedio del número de espinas en las dendritas secundarias fué similar al reportado por Graveland y cols. en 1985 ($7.2 \text{ esp./} 10 \mu\text{m}$) a diferencia de los valores reportados por Pasik y cols. en 1976 ($15 \text{ esp./} 10 \mu\text{m}$) en el neocórtex del mono; esta desigualdad podría deberse a la diferencia entre especies.

Neurona espinosa tipo II

La neurona espinosa tipo II descrita por Kemp y cols. 1971 y Pasik y cols. 1970, corresponde a otra población estriatal distinta a las tipo I.

En estudios previos (Braak y cols. 1982 y Graveland y cols. 1985) describen a esta población neuronal de forma triangular y fusiforme a diferencia de nuestras observaciones donde distinguimos cinco formas diferentes a las anteriormente reportadas.

Nuestros valores de las dimensiones del cuerpo neuronal fueron similares a los reportados por Graveland y cols. 1985. Sin embargo el número de espinas, reportado por estos autores fué de 1.5 espinas/ 10 μm , mientras que nuestros valores fueron de 5.28 espinas/ 10 μm ; más semejantes a los reportados por Pasik y cols. (1976).

Neurona lisa mediana

Este tipo de célula corresponde a la neurona descrita por Fox y cols. (1971) en el neocórtex del mono, presentaron dendritas sin espinas y varicosidades frecuentes (Pasik y cols. 1976).

Según Braak y cols. (1982) y Graveland y cols. (1985) dichas neuronas tienen forma esférica y ovoide, a diferencia de estos autores, pudimos diferenciar cuatro formas diferentes a las anteriormente reportadas, mientras que la disposición de las dendritas fué en forma concéntrica lo que se refleja en el valor de la longitud dendrítica, que es menor que las otras poblaciones neuronales.

Neurona lisa grande

Este tipo de células son las neuronas de mayor tamaño del neocórtex y corresponden a las interneuronas colinérgicas de más de 40 μm de diámetro. Estas neuronas presentan dendritas lisas y delgadas, que de acuerdo con Fox y cols. (1971) pertenecen a un tipo de neuronas gigantes. Nuestros resultados revelaron que esta población neuronal representa el 6.8 % de la población celular a diferencia de lo reportado (1.7 %) por Phelps y cols. (1985). Las neuronas LG lo

constituyen un grupo de neuronas gigantes con siete formas diferentes, siendo las más frecuentes la triangular y la poligonal a diferencia de lo reportado por Braak y cols. (1982) quienes las describe como esféricas.

Como puede observarse, en el núcleo caudado del humano normal encontramos cuatro poblaciones neuronales que concuerdan con algunas poblaciones reportadas por otros autores. A diferencia de los reportado por Chang y cols. (1982), dichos autores diferencian 8 tipos neuronales en el neocórtex de la rata. Sin embargo en cada población neuronal encontramos subpoblaciones con diferentes patrones morfológicos a diferencia de lo reportado anteriormente, lo que nos indica que el neocórtex del humano presenta una gran diversidad neuronal.

Comparación de la ultraestructura de la sinaptología normal y de los pacientes parkinsonianos.

Nuestros resultados confirman lo anteriormente reportado, por Machado y cols. (1990) en el sentido que el neuropilo de los pacientes parkinsonianos presentan alteraciones ultraestructurales de las neuronas, los axones y las dendritas.

Con respecto al análisis cuantitativo del diámetro de los botones sinápticos, las dimensiones de estos son significativamente mayores en los pacientes afectados por la enfermedad que los sujetos control ($p < 0.05$). A pesar de que la ultraestructura de la mayoría de los botones estudiados fué normal, existieron cambios en el tamaño de los botones que podrían ser una manifestación de un proceso degenerativo.

Por otra parte los botones sinápticos mostraron diferentes patrones de distribución vesicular siendo más frecuentes en el grupo control las I b y II b, a diferencia del grupo de los pacientes en el que los tipos de distribución más frecuentes fueron los I a y III con diferencias significativas $p < 0.05$. Estos resultados podrían indicar que la mayor frecuencia del tipo vesicular III sea consecuencia de la degeneración de los botones sinápticos que se manifiesta aumentando el espacio intracitoplásmico y así cambiando la distribución de las vesículas sinápticas. Por otra parte, al analizar los resultados de los porcentajes de las diferentes distribuciones vesiculares de los pacientes parkinsonícos y de los controles podemos distinguir que a diferencia del grupo experimental, el grupo control mostró porcentajes semejantes en las cinco tipos de distribución vesicular. Esto podría indicar que en los botones sinápticos de los pacientes parkinsonícos existen alteraciones ultraestructurales que se podrían manifestar cambiando la disposición de las vesículas sinápticas en el botón sináptico.

Por otra parte el incremento observado de los contactos axodendríticos en los pacientes podría explicarse como un proceso similar al reportado por Roberts y cols. (1990) en ratas lesionadas con ácido quinolínic, en donde como producto de la denervación glutamatérgica se incrementa la proporción de las sinápsis axodendríticas, que podría explicarse como un proceso de plasticidad aumentando la superficie postsináptica, para tener mayor espacio de contacto sináptico. El aumento en el número de contactos dendríticos podría realizarse en las neuronas lisas medianas o grandes, posibilidad acorde a lo observado por Graveland y cols. (1985).

Respecto al hecho de que en los botones sinápticos de los pacientes parkinsonícos aumente el número de contactos dobles comparandolos con el grupo control, nos podría indicar un proceso de plasticidad que se manifiesta como un incremento de la superficie sináptica.

Como se ha reportado anteriormente (Machado y cols. 1989) nuestros datos muestran alteraciones postsinápticas específicas en dos pacientes parkinsonícos. Esta porción alterada corresponde a las dendritas de las neuronas estriatales que mostraron diferentes grados de degeneración que podrían ser consecuencia de la denervación. El hecho de que esta degeneración transináptica se halla observado solamente en dos pacientes, indica que el neuropilo del núcleo caudado de pacientes con enfermedad de Parkinson presenta diferentes alteraciones ultraestructurales. Estas diferencias podrían explicar las diversas respuestas farmacológicas de cada paciente, a la administración de medicamentos como la L-dopa ó anticolinérgicos. Este proceso degenerativo postsináptico, podría ser una evidencia de la pérdida neuronal estriatal, como lo reportado previamente por Bugiani y cols. (1980).

Las neuritas degeneradas observadas, estaban asociadas a botones sinápticos ultraestructuralmente normales a diferencia de lo observado por Lach y cols. (1992), quienes reportaron axones distróficos asociados a dendritas electrodensas.

Un hallazgo importante encontrado en este estudio y no reportado previamente en los humanos, fué la presencia de espínulas en los pacientes parkinsonícos, suceso que podría explicarse como un proceso de plasticidad debido a que las espínulas se han considerado como zonas sinápticas activas (Ver Schuster y cols. (1990). El

presente estudio demostró que en los pacientes parkinsonianos además de afectarse la vía nigroestriada (Hornykiewicz 1966), existen alteraciones ultraestructurales en las neuronas estriadales en los cuatro pacientes, y aunque nuestros resultados no nos permiten diferenciar que tipo de neuronas son las afectadas, se ha reportado que los pacientes parkinsonianos presentan alteraciones en la inervación dopaminérgica y noradrenérgica de la corteza motora (Gaspar y cols. 1991) y teniendo el antecedente de que la vía corticoestriada es una de las principales aferencias neostriadales, se podría sugerir que al afectarse la inervación catecolaminérgica cortical se podría afectar de forma indirecta las neuronas espinosas medianas debido a la deficiencia de dopamina y noradrenalina.

CONCLUSIONES

De los resultados ultraestructurales del neuropilo del núcleo caudado de los pacientes parkinsónicos en este estudio, se puede concluir lo siguiente:

-El análisis citológico nos refleja la gran variedad de subpoblaciones neuronales, que aunque existen diversas clasificaciones de la citología neuronal del neocórtex de diferentes especies animales incluyendo el hombre, pudimos distinguir que dentro de las cuatro poblaciones diferenciadas, existen diferentes patrones morfológicos para cada población que nos indica la gran complejidad citológica estriatal que se afecta de manera importante en la enfermedad de Parkinson (McNeill y cols. 1988).

-Como se mencionó anteriormente, los pacientes con enfermedad de Parkinson no responden de la misma forma al tratamiento farmacológico o a la intervención quirúrgica. En el presente trabajo se controlaron las variables de sexo y el tiempo de evolución de la enfermedad, sin embargo el paciente 3 (de edad similar al paciente 4) mostró diferente patrón de distribución vesicular y mayor porcentaje de dendritas degeneradas y de espínulas, lo que nos indica que la diferencia en la respuesta algún tratamiento pueda deberse a que no todos los pacientes con enfermedad de Parkinson se afectan de igual manera.

-Aunque nuestros resultados no nos permiten diferenciar el tipo neuronal estriatal afectado, evidenciamos en dos pacientes la presencia de dendritas en diferente grado

de degeneración que podrían corresponder a neuronas medianas espinosas, debido a que son las más frecuentes de la citología estriatal y que son el sitio de contacto de la aferencia nigral importantemente afectada en los pacientes con enfermedad de Parkinson.

-Y finalmente podríamos mencionar que además del proceso degenerativo, se lleva a cabo un proceso de plasticidad como consecuencia de la denervación nigroestriatal, que se manifiesta con la aparición de espínulas y el incremento del número de contactos dobles.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Adiñolfi, A.M. y Pappas, G.D. (1968) The fine structure of the caudate nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.* 133: 167-184.

Adrian, T.E., Allen, J.M., Bloom, S.R., Ghatel, M.A., Rossar, M.N., Roberts, G.W., Crow, T.J., Takemoto, K. y Polak, J.M. (1983) Neuropeptide Y distribution in human brain. *Nature* 306(8): 584-586.

Adrian, T.E., Allen, J.M., Bloom, S.R., Ghatel, M.A., Rossar, M.N., Roberts, G.W., Crow, T.J., Takemoto, K. y Polak, J.M. (1983) Neuropeptide Y distribution in human brain. *Nature*. 306(8): 584-586.

Albe-Fessard, D.C., Rocha-Miranda y Cruz, E.O. (1960). Activités évoquées dans le noyau caudé du chat en réponse à des types divers d'afférents II. Etude microphysiologique. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 12: 649-661.

Alexander, G.E. y Crutcher, M.D. (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends in Neurosci.* 13(7): 266-271.

Anden, N.E., Carlsson, A., Dahlström, A., Fuxe, K., Hillarp, N.A. y Larsson, K. (1964) Demonstration and mapping out of nigro-neostriatal dopamine neurons. *Life Sci.* 3: 523-530.

Anden, N.E., Dahlström, A., Fuxe, K., y Larsson, K. (1965) Further evidence for the presence of nigro-neostriatal dopamine neurons in the rat. *Am. J. Anat.* 116: 329-333.

Anden, N.E., Dahlström, A., Fuxe, K., Larsson, K., Olson, L. y Ungerstedt, U. (1966) Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon. *Acta Physiol Scand.* 67: 313-326.

Anden, N.E., Fuxe, K., Hamberger, B. y Hökfelt, T. (1966b) A quantitative study of the nigro-neostriatal dopamine neurons system in the rat. *Acta Physiol. Scand.* 67: 306-312.

Aoki, Ch. y Pickel, V.M. (1990) Ultrastructural immunocytochemical evidence for presynaptic localization of beta-adrenergic receptors in the striatum and cerebral cortex of rat brain. *Ann. New York Acad. Sci.* 604: 582-585.

- Arbilla, S. y Langer, S.Z. (1978) Morphine and-endorphin inhibit release of noradrenaline from cerebral cortex but not of dopamine from rat striatum. *Nature*. 271: 559-561.
- Azmitia, E.C. y Segal, M. (1978) An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *J. Comp. Neurol.* 179: 641-668.
- Beach, T.G. y McGeer, E.G. (1984) The distribution of substance P in the primate basal ganglia: an immunohistochemical study of baboon and human brain. *Neuroscience* 13(1): 29-52.
- Bernheimer, H., Birkmayer, W., Hornykiewicz, O., Jellinger, K. y Seitelberger, F. (1973) Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington-clinical, morphological and neurochemical correlations. *J. Neurol. Sci.* 20: 415-455.
- Biggio, G., Casa, M., Corda, M., DiBello, C. y Gessa, G.L. (1978) Stimulation of dopamine synthesis in caudate nucleus by intrastriatal enkephalins and antagonism by naloxone. *Science N.Y.* 200: 552-554.
- Blaha, Ch. D. y Winn P. (1993) Modulation of dopamine efflux in the striatum following cholinergic stimulation of the substantia nigra in intact and padunculopontine tegmental nucleus-lesioned rats. *J. Neurosci.* 13 (3): 1035-1044.
- Bolam, J.P., Somogyi, P. y Smith, A. (1980) Input and output of identified striatonigral medium-sized spiny neurons in the rat. *Neuroscience Letters Suppl.* 5: S39.
- Bolam, J.P., Somogyi, P. y Smith, A.D. (1981) A second type of striatonigral neuron: A comparison between retrogradely labelled and Golgi stained neurons at the light and electron microscopic levels. *Neuroscience* 6: 2141-2157.
- Bolam, J.P., Freud, T.P., Hammond, D.J., Smith, A.D. y Somogyi, P. (1982) Morphological characterization of (3H) GABA accumulating neurons in the rat neostriatum by Golgi-staining and electron microscopy. *Br. J. Pharmacol.* 75: 46P.
- Bolam, J.P., Clarke, D.J., Smith, A.D. y Somogyi, P. (1983a) A type of aspiny neuron in the rat neostriatum accumulates (3H)-aminobutyric acid: combination of Golgi-staining autoradiography and electron microscopy. *J. comp. Neurol.* 213: 121-134.
- Bolam, J.P., Somogyi, P., Takagi, H., Todor, I. y Smith, A.D. (1983b). Localization of substance P-like immunoreactivity in neurons and nerve terminals in the neostriatum of the rat: a correlated light and electron microscopic study. *J. Neurocytol.* 12: 325-344.

- Bolam, J.P., Wainer, B.H. y Smith, A.D. (1984) Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combination of choline acetyltransferase immunocytochemistry, Golgi impregnation and electron microscopy. *Neuroscience*. 12: 711-712.
- Bolam, J.P., Ingham, C.A., Izzo, P.N. Levy, A.I. Rye, D.B., Smith, A.D., y Wainer, B.H. (1986). Substance P-containing terminals in synaptic contact with cholinergic neurons in the neostriatum and basal forebrain. A double immunocytochemical study in the rat. *Brain Res.* 397: 279-289.
- Bolam, J.P., Izzo, P.N. y Graybiel, A.M. (1988) Cellular substrate of the histochemically defined striosome /matrix system of the caudate nucleus: a combined Golgi and immunocytochemical study in cat and ferret. *Neurosc.* 24(3): 853-875.
- Bolam, J. P. y Smith Y. (1990) The GABA and substance P input to dopaminergic neurons in the substantia nigra of the rat. *Brain Res.* 529: 57-78.
- Bolam, J.P., Francis, C.M. y Henderson, Z. (1991). Cholinergic input to dopaminergic neurons in the substantia nigra: a double immunocytochemical study. *Neuroscience* 41 (2/3): 483-494.
- Braak, H. y Braak, E. (1982) Neuronal types in the striatum of man. *Cell Tissue Res.* 227: 319-342.
- Brennan, M.J.W., Cantrill, R.C. y Nylle, B.A. (1980) Modulation of synaptosomal GABA release by enkephalin. *Life Sci.* 27: 1097-1101.
- Bryan, K.Y. y Sheri, D. (1992) Dopaminergic modulation of glutamate release in striatum as measured by microdialysis. *J. Neurochem.* 58: 1736-1742.
- Bugiani, O., Perdelli, F., Slavarani, S., Leonardi, A. y Mancardi, G.L. (1980) Loss of striatal neurons in Parkinson's disease: cytometric study. *Eur. Neurol.* 19: 339-344.
- Bunney, B.S., Walters, J.R., Roth, R.H., y Aghajanian, G.K. (1973) Dopaminergic neurons: effect of antipsychotic drugs and amphetamine on single cell activity. *J. Pharmac. exp. ther.* 185: 560-571.
- Bunney, B.S., Aghajanian, G.H. y Roth, R.H. (1973a) Comparison of effects of L-DOPA, amphetamine and apomorphine on firing rate of dopaminergic neurons. *Nature New Biol.* 245: 123-125.
- Butcher, S.G. y Butcher, L.L. (1974) Origin and modulation of acetylcholine activity in the neostriatum. *Brain Res.* 71: 167-171.

- Bylund, D.B., Snyder, S.H. (1976) Beta-adrenergic receptor binding in membrane preparation from mammalian brain. *Molec. Pharmac.* 12: 563-580.
- Carlsson, A. (1976) Some aspects of dopamine in the basal ganglia. In Melvin D. y Yahr M.D. (Eds.) *The basal ganglia*. Raven Press, New York, N.Y. 1976, pp. 181-189.
- Carlsson, M. y Carlsson, A. (1990) Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia-implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trens Neurosci.* 13(7): 272-276.
- Carpenter, M.B. (1976) Anatomical organization of the corpus striatum and related nuclei. En Melvin D. y Yahr M.D. (Eds.) *The basal ganglia*. Raven Press, New York, N.Y. pp. 159-168.
- Carpenter, M.B. y Peter, P. (1972) Nigrostriatal and nigrothalamic fibers in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 144: 93-115.
- Carpenter, M.B. (1981). Anatomy of the corpus striatum and brain stem integrating systems. In V. Brooks (ed.), *Handbook of physiology: The nervous system, motor control*. American Physiological Society, Bethesda, Md.
- Carpenter, M.B. (1984) Interconnections between the corpus striatum and brain stem nuclei. In J.S. McKenzie, R.E. Kemmand y L.N. Wilcock (eds.) *The basal ganglia. Structure and function*. pp.1-68. Plenum Press, New York.
- Cepeda, C., Buchwald, N.A., y Levine M.S. (1993) Neuromodulatory actions of dopamine in the neostriatum are dependent upon the excitatory amino acid receptor subtypes activated. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 9576-9580.
- Chang, H.T., Wilson, C.J. y Kitai, S.T. (1982) A Golgi study of rat neostriatal neurons: light microscopic analysis. *J. Comp. Neurol.* 208: 107-126.
- Chang, H.T., Wilson, C.J. y Kitai, S.T. (1981) Single neostriatal efferent axons in the globus pallidus: A light and electron microscopic study. *Science.* 213: 915-918.
- Chang, H.T. y Kitai, S.T. (1982) Large neostriatal neurons in the rat: an electron microscopic study of gold-tone Golgi-stained cells. *Brain Res. Bull.* 8: 631-643.
- Chang, H.T. (1988). Dopamine-acetylcholine interaction in the rat striatum: a dual-labeling immunocytochemical study. *Brain Res. Bull.* 21: 295-304.
- Cheramy, A., Besson, M.J. y Glowinski J. (1970). Increased release of dopamine from striatal dopaminergic terminals in the rat after treatment with a neuroleptic thiooperazine. *Eur. J. Pharmac.* 10: 206-214.

- Chesselet, M.F., Cheramy, A., Reisine, T.D., Lubetzki, C., Desban, M. y Glowinski, J. (1983). Local and distal effects induced by unilateral striatal application of opiates in the absence or in the presence of naloxone on the release of dopamine in both caudate nuclei and substantia nigra of the cat. *Brain Res.* 258: 229-242.
- Christensson-Nylander, M., Herrera-Marschitz, M., Staines, W., Hökfelt, T., Terenius, L., Ungerstedt, U., Cuello, C., Oertel, W. H. y Goldstein, M. (1986) Striato-nigral dynorphin and substance P pathways in the rat. I. Biochemical and immunohistochemical studies. *Exptl. Brain Res.* 64: 169-192.
- Cooper, P.E., Fernstrom, M.H., Rorstad, O.P., Leeman, S.E. y Martin, J.B. (1981) The regional distribution of somatostatin, substance P and neurotensin in human brain. *Brain Res.* 218: 219-232.
- Costa, E., Cheney, D.L., Mao, C.C. y Maroni, F. (1978) Action of antischizophrenic drugs on the metabolism of γ -aminobutyric acid and acetylcholine in globus pallidus, striatum and nucleus accumbens. *Fedn. Proc.* 37: 2408-2414.
- Cuello, A.C. y Kanazawa, I. (1978) The distribution of substance P immunoreactive fibers in the rat central nervous system. *J.Comp.Neurol.* 178: 129-156.
- Davies, J. y Dray, A. (1976) Substance P in the substantia nigra. *Brain Res.* 107: 623-627.
- Dawbarn, D., Hunt, S.P. y Emson, P.C. (1984) Neuropeptide Y: regional distribution chromatographic characterization and immunohistochemical demonstration in post-mortem human brain. *Brain Res.* 296: 168-173.
- DeBelleruche, J., y Bradford, H. (1980) Presynaptic control of the synthesis and release of dopamine from striatal synaptosomes: a comparison between the effects of 5-hydroxytryptamine, acetylcholine and glutamate. *J. Neurochem.* 35: 1227-1234.
- DeBelleruche, J., y Gardiner, I.M. (1983) Action of apomorphine bromocriptine and lergotriple on γ -aminobutyric acid and acetylcholine release in nucleus accumbens and corpus striatum. *J. Neurol. Trans.* 58: 153-168.
- DeFeudis, F.U., Delgado, J.M.R. y Roth, R.H. (1970) Content synthesis and collectality of aminoacids in various structures of the brains of rhesus monkeys. *Brain Res.* 18: 15-23.
- Descarries, L., Sogohomian, J.-J., García, S., Doucet, G. y Bruno, J.P. (1992) Ultrastructural analysis of the serotonin hyperinnervation in adult rat neostriatum

following neonatal dopamine denervation with 6-hydroxydopamine. *Brain Res.* 569: 1-13.

Diez-Guerra, F.J., Richardson, P.J. y Emson, P.C. (1988) Subcellular distribution of mammalian tachykinins in rat basal ganglia. *J. Neurochem.* 50: 440-450.

DiFiglia, M., Pasik, P. y Pasik, T. (1976) A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res.* 114: 245-256.

DiFiglia, M., Pasik, T. y Pasik, P. (1980) Ultrastructure of Golgi-impregnated and gold-toned spiny and aspiny neurons in the monkey neostriatum. *J. Neurocytol.* 9: 471-492.

DiFiglia, M., Aronin, N. y Martin J.B. (1982) Light and electron microscopic localization of immunoreactive Leu-enkephalin in the monkey basal ganglia. *Neuroscience.* 2(3): 303-320.

DiFiglia, M., Aronin, N. (1982). Ultrastructural features of immunoreactive somatostatin neurons in the rat caudate-nucleus. *J. Neurosci.* 2: 1267-1274.

DiFiglia, M., Roberts, R.C. y Benowitz, L.I. (1990) Immunoreactive GAP-43 in the neuropil of adult rat neostriatum: Localization in unmyelinated fibers, axon terminals and dendritic spines. *J. comp. Neurol.* 302: 992-1001.

Dimova, R., Vulliet, J., y Seite, R. (1980) Study of the rat neostriatum using a combined Golgi-electron microscope technique and serial sections. *Neuroscience.* 5: 1581-1596.

Donnan, G.A., Kaczmarczyk, S.J., Paxinos, G., Chilco, P.J., Kalnins, R.M., Woodhouse, D.G. y Mendelsohn, F.A.O. (1991) Distribution of catecholamine uptake sites in human brain as determined by quantitative tritiated mazindol autoradiography. *J. comp. Neurol.* 304(3): 419-434.

Dubé, L. y Descarries, L. (1987) Morphological features of GABA-containing neostriatal neurons projecting to the substantia nigra. *Neuroscience* 22: S798.

Emson, P.C., Arregui, A., Clement-Jones, V., Sandberg, B.E.B. y Rossor, M. (1980). Regional distribution of methionine-enkephalin and substance P-like immunoreactivity in normal human brain and in Huntington's disease. *Brain Res.* 199: 147-160.

Ersparmer, V. (1981) The tachykinin peptide family. *Trends Neurosci.* 4: 267-269.

- Fahn, S., Libsch, L. R. y Cutler, R. W. (1971). Monoamines in the human neostriatum. Topographic distribution in normals and Parkinson's disease and their role in akinesia, chorea and tremor. *J. Neurol. Sci.* 14: 427-455.
- Farley, I.J. y Hornykiewicz, O. (1977) Noradrenaline distribution in subcortical areas of the human brain. *Brain Res.* 126: 53-62.
- Forno, L.S., y Norville, R.L.(1979). Ultrastructure of neostriatum in Huntington's and Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 23: 123-135.
- Fox, C.A., Andrade, A.N., Hillman, D.E. y Schwyn, R.C. (1971) The spiny neurons in the primate striatum: A Golgi and electron microscopic study. *J. Hirnforsch* 13: 181-201.
- Fox, C.A., Andrade, A.N., Schwyn, R.C. y Rafols, J.A. (1971) The aspiny neurons and the glia in the primate striatum: A Golgi and electron microscopic study. *J. Hirnforsch* 13: 341-362.
- Freund, T.F., Powell, J.F., y Smith, A.D. (1984) Tyrosine hydroxylase-Immunoreactive boutons in synaptic contact with identified striatonigral neurons, with particular reference to dendritic spines. *Neuroscience* 13(4): 1189-1215.
- Fuxe, K., Hökfelt, T. y Nilsson, O. (1964). Observations on the cellular localization of dopamine in the caudate nucleus of the rat. *Z. Zellforsch.* 63: 701-706.
- Galloway, P.G. y Perry, G. (1991) Tropomyosin distinguishes Lewy bodies of Parkinson disease from other neurofibrillary pathology. *Brain Res.* 541: 347-349.
- García-Muñoz, M., Young, S.J. and Groves, P.M. (1991) Terminal excitability of the corticostriatal pathway. II. Regulation by glutamate receptor stimulation. *Brain Res.* 551:207-215.
- Gaspar, P., Duyckaerts, Ch., Alvarez, Ch., Javoy-Agid, F. y Berger, B. (1991) Alterations of dopaminergic and noradrenergic innervations in motor cortex in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 30: 365-374.
- Gazzara, R.A., Takeda, H., Cho, A.K. y Howard, S.G. (1989) Inhibition of dopamine release by methylenedioxymethamphetamine is mediated by serotonin. *Eur. J. Pharmacol.* 168(2): 209-217.
- Gerfen, C.R. (1985) The neostriatal mosaic. I. Compartmental organization of projections from the striatum to the substantia nigra in the rat. *J. Comp. Neurol.* 236: 454-476.

- Gerfen, C.R. y Young, III W.S. (1988) Distribution of striatonigral and striatopallidal peptidergic neurons in bot patch and matrix compartments: an in situ hybridization histochemistry and fluorescent retrograde tracing study. *Brain Res.* 460: 161-167.
- Gibb, W.R.G. y Lees A.J. (1991) Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal subpopulations of the substantia nigra, and differential cell death in Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 54: 388-396.
- Giorgiuleff, M.F., LeFloc'h, M.L., Westfall, T.C., Glowinski, J. y Besson, M.J. (1976) Nicotinic effect of acetylcholine on the release of newly synthesized 3H-dopamine in rat striatal slices and cat caudate nucleus. *Brain Res.* 106: 117-131.
- Godwin-Austen, R.B. y Smith, N.J. (1977) Comparison of the effects of bromocriptine and levodopa in Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 40: 479-482.
- Goldman-Rakic, P.S. (1982) Cytoarchitectonic heterogeneity of the primate neostriatum: Subdivisions into island and matrix cellular compartments. *J. Comp. Neurol.* 205: 398-413.
- Goldstein, M., Lieberman, A.N., Helmer, E. Koslow, M., Ransohoff, J., Elsworth, J.D., Roth, R.H. y Deutch, A.Y. (1988) Biochemical analysis of caudate nucleus biopsy samples from parkinsonian patients. *Ann. Neurol.* 24: 685-688.
- Goto S., Hirano A. y Matsumoto, S. (1990) Methionine enkephalin immunoreactivity in the basal ganglia in Parkinson's disease and striatonigral degeneration. *Neurol.* 40(7): 1051-1056.
- Graveland, G., Williams, R.S. y DiFiglia, M. (1985) A Golgi study of the human neostriatum neurons and afferent fibers. *J. Comp. Neurol.* 234: 317-333.
- Graveland, G., Williams, R.S. y DiFiglia, M. (1985) Evidence for degenerative and regenerative changes in neostriatal spiny neurons in Huntington's disease. *Science.* 227: 770-773.
- Grofova, I. (1975) The identification of striatal and pallidal neurons projecting to substantia nigra. An experimental study by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 91: 286-291.
- Groves, P.M. (1983) A theory of the functional organization of the neostriatum and the neostriatal control of voluntary movement. *Brain Res. Rev.* 5: 109-132.

Guyenet, P.G., Agid, Y., Javoy, F., Beaujouan, J.C., Rossier, J.C. y Glowinski, J. (1975) Effects of dopaminergic receptor agonists and antagonists on the activity of the neostriatal cholinergic system. *Brain Res.* 84: 227-244.

Haber, S.N. y Elde, R. (1982) The distribution of enkephalin immunoreactive fibers and terminals in the monkey central nervous system: An immunocytochemical study. *Neurosciences* 7(5): 1049-1095.

Haber, S.N. (1985) Neurotransmitters in the human and non-human primate basal ganglia. *Human Neurobiol.* 5: 159-168.

Haber, S.N. y Watson, S.J. (1985) The comparative distribution of enkephalin dynorphin and substance P in the human globus pallidus and basal forebrain. *Neuroscience* 14: 1011-1024.

Harvey B. S. y Netsky M.G. (1981) (Eds) *Evolution of the nervous system.* Oxford University Press. 2a. ed. pp. 347-355.

Hattori, T., McGeer, P.L. y McGeer, E.G. (1976 a) Synaptic morphology in the neostriatum of the rat. Possible serotonergic synapse. *Neurochem. Res.* 1: 451-467.

Hattori, T., McGeer, E.G. y McGeer, P.L. (1978) Fine structural analysis of the cortico-striatal pathway. *J. comp. Neurol.* 185: 347-354.

Hedreen, J.C. y DeLong, M.R. (1991) Organization of striato pallidal striatonigral and nigrostriatal projections in the macaque. *J. comp. Neurol.* 304(4): 569-595.

Herkenham, M. y Pert, C.B. (1981) Mosaic distribution of opiate receptors parafascicular projections and acetylcholinesterase in rat striatum. *Nature* 291(4): 415-417.

Hirsch, E.C., Graybiel, A.M., Hersh, L.B., Duyckaerts, C. y Agid, Y. (1989) Striosomes and extrastriosomal matrix contain different amounts of immunoreactive choline acetyltransferase in the human striatum. *Neurosci. Lett.* 96(2): 145-150.

Hökfelt, T. y Ungerstedt, U. (1969) Electron and fluorescence microscopical studies on the nucleus caudatus putamen of the rat after unilateral lesions of nigrostriatal dopamine neurons. *Acta Physiol. Scand.* 76: 415-426.

Hökfelt, T., Skirboll, L., Rehfeld, J.F., Goldstein, M., Markey, K. y Dann, O. (1980) A subpopulation of mesencephalic dopamine neurons projecting to limbic areas contains a cholecystokinin-like peptide: evidence from immunohistochemistry combined with retrograde tracing. *Neuroscience.* 5: 2093-2124.

Holman, R.B., Vogt, M. (1972) Release of 5 hydroxytryptamine from caudate nucleus and septum. *J. Physiol.* 223: 243-54.

Hong, J.S., Yang, H.Y., Racagni, G. y Costa, E. (1977) Projections of substance P containing neurons from neostriatum to substantia nigra. *Brain Res.* 122(3): 541-4.

Hornykiewicz, O.(1966) Dopamine (3-hydroxytyramine) and brain funtion. *Pharmacol. Rev.*18: 925-964.

Hornykiewicz, O. y Kish, S.J. (1986) Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 45: 19-34.

Ingham, C.A., Hood, S.H. y Arbuthnott, G.W. (1991) A light and electron microscopical study of enkephalin-immunoreactive structures in the rat neostriatum after removal of the nigrostriatal dopaminergic pathway. *Neurosci.* 42(3): 715-30.

Ingham, C.A., Hood S.H., van Maldegem B., Weenink A. y Arbuthnott G.W. (1993) Morphological changes in the rat neostriatum after unilateral 6-hydroxydopamine injections into the nigrostriatal pathway. *Exp Brain Res.* 93: 17-27.

Jacobowitz, D.M. y Palkovit, S.M. (1974) Topographic atlas of catecholamine and acetylcholinesterase containing neurons in the rat brain I forebrain (telencephalon, diencephalon). *J. Comp. Neurol.* 157: 13-28.

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

Jellinger, K. (1986) Overview of morphological changes in Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 45: 1-18.

Jellinger, K. (1990) New developemnts in the pathology of Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 53: 1-16.

Jenner, P. (1989) Clues to the mecanism underlying dopamine cell death in Parkison's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* Special Suppl. 22-28.

Jenner, P.G. (1992) Oxidative stress as a cause of Parkinson's disease. In *Neurodegeneration* (Hunter A.J. and Clark M.eds.) Academic Press, New York, pp. 1-20.

- Jimenez-Castellanos, J. y Graybiel, A.M. (1987). Subdivisions of the dopamine-containing A8-A9-A10 complex identified by their differential mesostriatal innervation of striosomes and extrastriosomal matrix. *Neuroscience* 23(1): 223-242.
- Kato, G., Carson, S., Kemel, M.L., Giorgiuleff, M.F. y Glowinski, J. (1978) Changes in striatal specific 3H-atropine binding after 6-OHDA lesion of nigro-striatal neurons. *Life Sci.* 22: 1607-1614.
- Kastner, A., Hirsh, E.C., Lejeune, O., Javoy-Agid, F., Rascol, O. y Agid, Y. (1992) Is the vulnerability of neurons in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease related to their neuromelanin content. *J. Neurochem.* 59: 1080-1089.
- Kelley, A.E., Domesick, V.B. y Nauta, W.J.H. (1982) The amygdalostriatal projection in the rat - an anatomical study by anterograde and retrograde tracing methods. *Neuroscience* 7: 615-630.
- Kemp, J.M. y Powell, T.P.S. (1970) Cortico-striate projections in the monkey. *Brain* 93: 525-546.
- Kemp, J.M. y Powell, T.P.S. (1971) The structure of the caudate nucleus of the cat. Light and electron microscopy. *Phil. Trans Roy. Soc. Lond. Ser. B.* 262: 383-401.
- Kennard, M.A. (1944). Experimental analysis of the functions of the basal ganglia in monkeys and chimpanzees. *J. Neurophysiol.* 7: 127-148.
- Kish, S.J., Rajput, A., Gilbert, J., Rozdilsky, B., Chang, L.J., Shannak, K. y Hornykiewicz, O. (1986) Gaba is elevated in striatal but not extrastriatal brain regions in Parkinson's disease: correlation with striatal dopamine loss. *Ann Neurol.* 19.
- Kish, S.J., Shannak, K., Rajput, A., Deck, J.H.N. y Hornykiewicz, O. (1992) Aging produces a specific pattern of striatal dopamine loss: implications for the etiology of idiopathic Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 58: 642-648.
- Kita, H. y Kitai, S.T. (1988) Glutamate decarboxylase immunoreactive neurons in rat neostriatum: their morphological types and populations. *Brain Res.* 447: 346-352.
- Kitai, S.T., Kocsis, J.D. y Wood, J. (1976) Origin and characteristics of the cortico-caudate afferents: an anatomical and electrophysiological study. *Brain Res.* 118: 137-141.
- Kitai, S.T., Kocsis, J.D., Preston, R.J. y Sugimori, M. (1976) Monosynaptic inputs to caudate neurons identified by intracellular injection of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 109: 601-606.

- Kuhuar, M.J., Pert C.B. y Snyder, S.H. (1973) Regional distribution of opiate receptor binding in monkey and human brain *Nature* 245(26): 447-450.
- Künzle, H. (1975) Bilateral projections from precentral motor cortex to the putamen and other parts of the basal ganglia an autoradiographic study in *Macaca fascicularis*. *Brain Res.* 88: 195-209.
- Kupersmith, M.J. y Goldstein, M. (1980) The effect of decortication on the basal ganglia receptor. *Neurosci. Lett.* 17: 335-337.
- Lach, B., Grimes, D., Benoit, B. y Minkiewicz-Janda, A. (1992) Caudate nucleus pathology in Parkinson's disease: ultrastructural and biochemical findings in biopsy material. *Acta Neuropathol.* 83: 352-360.
- Langer, L.F. y Graybiel, A.M. (1989) Distinct nigrostriatal projection systems innervate striosomes and matrix in the primate striatum. *Brain Res.* 498: 344-350.
- Lee, J.M., McLean, S., Magglo, J.E., Zamir, N., Roth R.H., Eskay, R.L. y Bannon M.J. (1986) The localization and characterization of substance P and substance K in striatonigral neurons. *Brain Res.* 371: 152-154.
- Lee, H.J., Alcorn, L.M. y Weller, M.H. (1991) Effects of various experimental manipulations on neostriatal acetylcholine and dopamine release. *Neurochem. Res.* 16(8): 875-883.
- Lindfors, N., Brene, S., Herrera-Marschitz, M. y Persson, H. (1990) Neuropeptide gene expression in brain is differentially regulated by midbrain dopamine neurons. *Exp. Brain Res.* 80: 489-500.
- Lloyd, K. G., Davidson, L. y Hornykiewicz, O. (1975) The neurochemistry of Parkinson's disease: effect of L-DOPA therapy. *J. Pharmacol.* 195: 453-464
- Machado-Salas, J.P., Ibarra, O., Aceves, J., Martínez, F.D., Cornejo, A., Espinosa, J. y Aley P. (1989) Evidencia ultraestructural de la presencia de alteraciones neuropflicas postsinápticas en el núcleo caudado de pacientes con enfermedad de Parkinson. *Academia Mexicana de Neurología A.C. XIII Reunión Anual. Tijuana B.C.*
- Machado-Salas, J., Ibarra, O., Martínez, F.D., Cornejo, A., Aceves, J., Kuri, J. (1990) Degenerative ultrastructural changes observed in the neuropil of caudate nuclei from Parkinson's disease patients. *Stereotact. Funct. Neurosurg. (Switzerland)* 54-55: 297-305.

Mann, D.M.A. y Yates, P.O. (1983) Pathological basis for neurotransmitter changes in Parkinson's disease. *Neuropath. Appl. Neurobiol.* 9: 3-19.

Marjorie, R., Grafe, D., Forno L.S. y Eng L.F. (1985) Immunocytochemical studies of substance P and met-enkephalin in the basal ganglia and substantia nigra in Huntington's, Parkinson's and Alzheimer's diseases. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 44(1): 47-59.

Markham, C.H. y Diamond, S.G. (1981) Evidence to support early levodopa therapy in Parkinson's disease. *Neurology.* 31: 125-131.

Mauborgne, A., Javoy-Agrid, F., Legrand, J.C., Agid, C. y Cessetin, F. (1983) Decrease of substance P-like immunoreactivity in the substantia nigra and pallidum of Parkinsonian brains. *Brain Res.* 238: 167-70.

McDonaldson, I., Dolphin, A., Jenner, P., Marsden, C.D. y Pycocock, C. (1976) The roles of noradrenaline and dopamine in contraversive circling behaviour seen after unilateral electrolytic lesion of the locus coeruleus. *Eur. J. Pharmac.* 39: 179-191.

McGeer, P.L., McGeer, E.G., Fibiger, H.C. y Wickson, V. (1971) Neostriatal choline acetylase and cholinesterase following selective brain lesions. *Brain Res.* 35: 308-314).

McGeer, P.L. y McGeer, E.G. (1975) Evidence for glutamic acid decarboxylase-containing interneurons in the neostriatum. *Brain Res.* 91: 331-335.

McGeorge, A.J. y Faull, R.L.M. (1987) The organization and collateralization of corticostriate neurons in the motor and sensory cortex of the rat brain. *Brain Res.* 423: 318-324.

McKenzie, R.G., Stachowiak, M.K., Zigmond, M.J. (1989) Dopaminergic inhibition of striatal acetylcholine release after 6-hydroxydopamine. *Eur. J. Pharmac.* 168: 43-52.

McNeill, T.H., Brown, S.A., Rafols, J.A. y Shoulson, I. (1988) Atrophy of medium spiny I striatal dendrites in advanced Parkinson's disease. *Brain Res.* 455: 148-152.

Meyer, D.K., Beinfeld, M.C., Oertel, W.H. y Brownstein, M.J. (1982) Origin of the cholecystokinin-containing fibers in the rat caudatoputamen. *Science* 215: 187-188.

Moore, R.Y. y Bloom, F.E. (1978) Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the dopamine systems. *Ann Rev. Neurosci.* 1: 129-169.

- Moore, K.E. y Wuerthele, S.M. (1979) Regulation of nigrostriatal and tuberoinfundibular-hypophyseal dopaminergic neurons. *Progress in Neurobiol.* 13: 325-359.
- Mufson, E.J., Presley, L.N. y Kordower, J.H. (1991). Nerve growth factor receptor immunoreactivity within the nucleus basalis (CH4) in Parkinson's disease: reduced cell numbers and co-localization with cholinergic neurons. *Brain Res.* 539(1) 19-30.
- Nauta, H.J.W. (1979) Projections of the pallidal complex: An autoradiographic study in the cat. *Neuroscience* 4: 1853-1873.
- Nieullon, A., Cheramy, A., y Glowinski, J. (1978) Release of dopamine evoked by electrical stimulation of the motor and visual areas of the cerebral cortex in both caudate nuclei and in the substantia nigra in the cat. *Brain Res.* 145: 69-84.
- Ochi, J. y Shimizu, K. (1978) Occurrence of dopamine-containing neurons in the midbrain raphe nuclei of the rat. *Neurosci. Lett.* 8: 317-320.
- O'Donohue, T.L. Crowley, W.R. y Jacobowitz, D.M. (1979) Biochemical mapping of the noradrenergic ventral bundle projection sites: Evidence for a noradrenergic-dopaminergic interaction. *Brain Res.* 172: 87-100.
- Oertel, W.H. y Mugnaini, E. (1984) Immunocytochemical studies of gabaergic neurons in rat basal ganglia and their relations to other neuronal systems. *Neurosci. Lett.* 47: 233-238.
- Olson, L., Seliger, A. y Fuxe, K. (1972) Heterogeneity of striatal and limbic dopamine innervation: Highly fluorescent islands in developing and adult rats. *Brain Res.* 44: 283-288
- Pakkenberg, B., Moller, A., Gundersen, H.J., Mouritzen, D.A. y Pakkenberg, H. (1991) The absolute number of nerve cells in substantia nigra in normal subjects and in patients with Parkinson's disease estimated with an unbiased stereological method. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 54(1): 30-3.
- Parent, A., Mackey, A. y De Bellefeuille, L. (1983) The subcortical afferents to caudate nucleus and putamen in primate: a fluorescence retrograde double-labelling study. *Neuroscience* 10: 1137-1150.
- Parkinson, J. (1817) *Essay on the shaking palsy.* Neely and Jones (Eds.). Sherwood, London. pp 19-27.

Pasik, P., Pasik, T. y DiFiglia, M. (1976) Quantitative aspects of neuronal organization in the neostriatum of the macaque monkey. In Melvin D. and Yahr M.D. (Eds.) The basal ganglia. Raven Press, New York, N.Y. 1976 pp 57-89.

Pasik, P., Pasik, T. y Holstein, G.R. (1986) Ultrastructural chemoanatomy of the basal ganglia: An overview. *Adv. Neurol.* 45 (Yahr, M.D. and Bergmann, K.J. eds.) Raven Press, New York, pp 59-66.

Pasik, P., Pasik, T.M., Holstein, G.R. y Hamori, J. (1988) GABAergic elements in the neuronal circuits of the monkey neostriatum: A light and electron microscopic immunocytochemical study. *J. Comp. Neurol.* 270: 157-170.

Pearce, J.M.S. (1978) A etiology and natural history of Parkinson's disease. *Br. Med. J.* 2: 1664-1666.

Phelps, P.E., Houser, C.R. y Vaughn, J.E. (1985) Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase within the rat neostriatum: a correlated light and electron microscopic study of cholinergic neurons and synapses. *J. comp. Neurol.* 238: 286-307.

Penny, G.R., Aesharpour, S. y Kitai, S.T. (1986) The glutamate decarboxylase, Leucine-enkephalin, Methionine-enkephalin and substance P immunoreactive neurons in the neostriatum of the rat and cat: Evidence for partial population overlap. *Neuroscience* 17(4): 1011-1045.

Pickel, V.M., Beckley, S.C., Job, T.H. y Reis, D.J. (1981) Ultrastructural immunocytochemical localization of tyrosine hydroxylase in the neostriatum. *Brain Res.* 225: 373-385.

Poirier, L.J. y Sourkes, T.L. (1965) Influence of the substantia nigra on the catecholamine content of the striatum. *Brain* 88: 181-192.

Pollard, H., Llorens-Cortes, C. y Schwartz, J.C. (1977) Enkephalin receptors on dopaminergic neurones in rat striatum. *Nature* 268 (5622): 745-7.

Price, D.L., Whitehouse, P.J. y Struble, R.G. (1986) Cellular pathology in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* 9(1): 29-33.

Ragsdale, C.W.Jr. y Graybiel, A.M. (1988) Fibers from the basolateral nucleus of the amygdala selectively innervate striosomes in the caudate nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.* 269: 506-522.

Ragsdale, C.W.Jr. y Graybiel, A.M. (1991) Compartmental organization of the thalamostriatal connection in the cat. *J. comp. Neurol.* 311(1): 134-67.

Reid, M.S., Herrera-Marschitz, M., Hökfelt, T., Lindfors, N., Persson, H. y Ungersted, U. (1990) Striatonigral GABA, dynorphin, substance P and neurokinin A modulation of nigrostriatal dopamine release: evidence for direct regulatory mechanisms. *Exp. Brain Res.* 82: 293-303.

Reiner A., Brauth S.E. y Karten H.J. (1984) Evolution of the amniote basal ganglia. *Trends. Neurosci.* 7(9): 320-325.

Reiner, A. y Anderson, K.D. (1990) The patterns of neurotransmitter and neuropeptide co-occurrence among striatal projection neurons: conclusions based on recent findings. *Brain Res. Rev.* 15: 251-265.

Reisine, T.D., Chesselet, M.F., Lubetzki, C., Cheramy, A. y Glowinski, J. (1982) A role for striatal beta-adrenergic receptors in the regulation of dopamine release. *Brain Res.* 241: 123-30.

Ribak, C.E., Vaughn, J.E. y Roberts, E. (1979) The GABA neurons and their axon terminals in rat corpus striatum as demonstrated by GAD immunocytochemistry. *J. Comp. Neurol.* 187: 261-284.

Ribak, C.E., Vaughn, J.E. y Roberts, E. (1980) GABAergic nerve terminals decrease in the substantia nigra following hemitransections of the striatonigral and pallidonigral pathways. *Brain Res.* 192: 413-420.

Rinne, J.O., Laihinen, A., Lonnberg, P., Marjamaki, P. y Rinne, U.K. (1991) A post-mortem study on striatal dopamine receptors in Parkinson's disease. *Brain Res.* 556(1): 117-122.

Roberts, G.W., Woodhams, P.L., Polak, J.M. y Crow, T.J. (1982) Distribution of neuropeptides in the limbic system of the rat: The amygdaloid complex. *Neuroscience.* 7: 99-131.

Roberts, R.C. y DiFiglia, M. (1990) Evidence for synaptic proliferation, reorganization, and growth in the excitotoxic lesioned adult rat caudate nucleus. *Exp. Neurol.* 107: 1-10.

Rowlands, G.J. y Roberts, P.J. (1980) Specific calcium-dependent release of endogenous glutamate from rat striatum is reduced by destruction of the cortico-striatal tract. *Exp. Brain Res.* 39: 239-240.

Royce, G.J. (1978) Cells of origin of subcortical afferents to the caudate nucleus: A horseradish peroxidase study in the cat. *Brain Res.* 153: 465-475.

Royce, G.J. (1982) Laminar origin of cortical neurons which project upon the caudate nucleus: a horseradish peroxidase investigation in the cat. *J. Comp. Neurol.* 205: 8-29.

Sadikot, A.F., Parent, A. y François, C. (1990) The centre médian and parafascicular thalamic nuclei project respectively to the sensorimotor and associative-limbic striatal territories in the squirrel monkey. *Brain Res.* 510: 161-165.

Scherman, D., Desnos, C., Darchen, F., Pollak, P., Javoy-Agid, F. y Agid, Y. (1989) Striatal dopamine deficiency in Parkinson's disease: role of aging. *Ann. Neurol.* 26: 551-557.

Schultz, W., Romo, R., Scarnati, E., Studer, A., Jonsson, G. y Sundstrom, E. (1989) Neural mechanisms in the basal ganglia related to the initiation of movements. *Neural Mechanisms in Disorders of Movement.* Eds. A. R. Crossman M.A. Sambrook J. Libbey London. pp. 145-156.

Schuster, T., Krug, M. y Wenzel, J. (1990) Spinules in axospinous synapses of the rat dentate gyrus: changes in density following long-term potentiation. *Brain Res.* 523: 171-174.

Seitelerg, F. y Lassmann, H. (1990) Patología del citoesqueleto en la enfermedad de Alzheimer y trastornos relacionados con esta enfermedad. *Gac. Med. Mex.* 126(5): 367-73.

Sidney, Siegel (1982) Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta. 7a. reimpresión. Ed. Trillas. México. pp 121-130.

Smith, A.D. y Bolam, J.P. (1990) The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurons. *Trends in Neurosc.* 13(7): 259-265.

Somogyi, P., Bolam, J.P., y Smith, A.D. (1981) Monosynaptic cortical input and local axon collaterals of identified striatonigral neurons. A light and electron microscopic study using the Golgi-peroxidase transport degeneration procedure. *J. comp. Neurol.* 195: 567-584.

Somogyi, P., Priestley, J.V., Cuellar, A.C., Smith, A.D. y Takagi, H. (1982) Synaptic connections of enkephalin-immunoreactive nerve terminals in the neostriatum: a correlated light and electron microscopic study. *J. Neurocytol.* 11: 779-807.

Spencer, H.J. (1976) Antagonism of cortical excitation of striatal neurons by glutamic acid diethyl ester: evidence for glutamic acid as an excitatory transmitter in the striatum. *Brain Res.* 102(1): 91-101

- Staines, W.A. Atmadja, S. y Fibiger, H.C. (1980) Demonstration of a pallidostratial pathway by retrograde transport of HRP- labeled lectin. *Brain Res.* 206: 446-450.
- Steinbusch, H.W.M., Nieuwenhuys, R., Verhofstad, A.A.J. y Vander, K. D. (1981) The nucleus raphe dorsalis of the rat and its projection upon the caudatoputamen: A combined cytoarchitectonic immunohistochemical and retrograde transport study. *J. Physiol. (Paris)* 77: 157-174.
- Streit, P. (1980) Selective retrograde labeling indicating the transmitter of neuronal pathways. *J. Comp. Neurol.* 191: 429-463.
- Szabo, J. (1980) Distribution of striatal afferents from the mesencephalon in the cat. *Brain Res.* 188: 3-21.
- Szabo, J. (1980) Organization of the ascending striatal afferents in monkeys. *J. comp. Neurol.* 189: 307-21.
- Takagi, H., Somogyi, P., Somogyi, J. y Smith, A.D. (1983). Fine structural studies on a type of somatostatin-immunoreactive neuron and its synaptic connections in the rat neostriatum: A correlated light and electron microscopic study. *J. comp. Neurol.* 214: 1-16.
- Taquet, H., Javoy-Agid, F., Hamon, M., Legrand, J.C., Agid, Y. y Cesselin, F. (1983) Parkinson's disease affects differently Met and Leu-enkephalin in the human brain. *Brain Res.* 280: 379-382.
- Tarrant, S.B., Routtenberg, A. (1977) The synaptic spinule in the dendritic spine: Electron microscopic study of the hippocampal dentate gyrus. *Tissue Cell.* 9: 461-473.
- Tatemoto, K. Carlquist, M. y Mutt, V. (1982). Neuropeptide Y-a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature (Lond).* 296: 659-660.
- Tenovuo, O., Rinne, U.K. y Viljanen M.K. (1984). Substance P immunoreactivity in the post-mortem Parkinsonian brain. *Brain Res.* 303: 113-116.
- Tepper, J.M., Sawyer, F. y Groves, P.M. (1987) Electrophysiologically identified nigral dopaminergic neurons intracellularly labeled with HSSPP: light microscopic analysis. *J. Neurosci.* 7: 2794-2806.

- Ternaux, J.P., Hery, F., Bourgoin, S., Adrien, J., Glowinski, J. Hamon, M. (1977) The topographical distribution of serotonergic terminals in the neostriatum of the rat and the caudate nucleus of the cat. *Brain Res.* 121(2): 311-26
- Tohgi, H., Abe, T., Takahashi, S., Takahashi, J. y Hamato, H. (1993) Concentrations of serotonin and its related substances in the cerebrospinal fluid of Parkinsonian patients and their relations to the severity of symptoms. *Neuroscience Lett.* 150 (feb): 71-74.
- Towle, A.C., Criswell, H.E., Maynard, E.H., Lauder, J.M., Joh, T.H., Mueller, R.A. y Breese, G.R. (1989) Serotonergic innervation of the rat caudate following a neonatal 6-hydroxydopamine lesion: An anatomical, biochemical and pharmacological study. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 34(2): 367-374.
- Ungerstedt, V. (1971) Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 367: 1-48.
- Veening, J.G., Cornelissen, F.M. y Lieven, P.A.J.M. (1980) The topical organization of the afferents to the caudatoputamen of the rat. A horseradish peroxidase study. *Neuroscience.* 5: 1233-1268.
- Verhoet, J., Wiegant, V.M. y DeWied D. (1970) Regional distribution of and type endorphins in rat brain. *Brain Res.* 231: 454-460.
- Vicent, S., Hökfelt, T., Christensson, I. y Terenius, L. (1982) Immunohistochemical evidence for a dynorphin immunoreactive striato-nigral pathway. *Eur. J. Pharmacol.* 85: 251-252.
- Voorn, P., Roest, G. y Groenewegen, H.J. (1987) Increase of enkephalin and decrease of substance P immunoreactivity in the dorsal and ventral striatum of the rat after midbrain 6-hydroxydopamine lesions. *Brain Res.* 412: 391-396.
- Voneida, T.J. (1960) An experimental study of the course and destination of fibers arising in the head of caudate nucleus in the cat and monkey. *J. Comp. Neurol.* 115: 75-87.
- Vuillet, J., Kerkerian, L., Salin, P. y Nieouillon, A. (1989) Ultrastructural features of NPY-containing neurons in the rat striatum. *Brain Res.* 477: 241-251.
- Walter, P.P., Riley, L.A., Hart, R.P. y Jonakait, G.M. (1991) Serotonin regulation of tachykinin biosynthesis in the rat neostriatum. *Brain Res.* 546: 33-39.

Wamsley, J.K., Zarbin, M.A., Young, W.S. y Kuhar, M.J. (1982) Distribution of opiate receptors in the monkey brain: An autoradiographic study. *Neuroscience* 7(3): 595-613.

Weber, E., Evans, C.J. y Barchas, J.D. (1982) Predominance of the amino-terminal octapeptide fragment of dynorphin in rat brain regions. *Nature* 299: 77-79.

Wilson, S.A.K. (1914). An experimental research into the anatomy and physiology of the corpus striatum. *Brain* 36: 427-492.

Wilson, C.J., y Groves, P.M. (1980) Fine structure and synaptic connections of the common spiny neuron of the rat neostriatum: A study employing intracellular injection of horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 194: 599-615.

Young, A.B., Penney, B., Dauth, G.W., Bromberg, M.B. y Gitman, S. (1983) Glutamate or aspartate as a possible neurotransmitter of cerebral corticofugal fibers in the monkey. *Neurology* 33: 1513-1516.

Yurek, D.M. y Sladek, J.R.Jr. (1990) Dopamine cell replacement: Parkinson's Disease. *Ann. Rev. Neurosci.* 13: 415-40.

Zahm, D.S. (1991) Compartments in rat dorsal and ventral striatum revealed following injection of 6-hydroxydopamine into the ventral mesencephalon. *Brain Res.* 552: 164-169.

Zigmond, M.J., Abercrombie, E.D., Berger, T.W., Grace, A.A. y Stricker, E.M. (1990) Compensations after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications. *Trends Neurosci.* 13(7): 290-296.