

**UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA**

**«La sustancia negra y el núcleo mesencefálico profundo  
como centro de salida de la información de los  
ganglios basales: evidencias electrofisiológicas»**

**Autor: Patricio Bertrand Abdala Sepúlveda  
Director: Dr. D. Manuel Rodríguez Díaz**

**Departamento de Fisiología**

*Don MANUEL RODRÍGUEZ DÍAZ, Profesor Titular del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de La Laguna,*

**CERTIFICA:**

*Que Dn. PATRICIO BERTRAND ABDALA SEPÚLVEDA, ha realizado bajo mi dirección los trabajos conducentes a la realización de su Tesis Doctoral titulada:*

**"ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO DE LAS NEURONAS DE LA SUSTANCIA NEGRA Y EL NÚCLEO MESENCEFÁLICO PROFUNDO EN RATAS".**

*Examinada la presente memoria, me declaro conforme con su contenido y considero que cumple los requisitos académicos y científicos para ser sometida al juicio del tribunal que proponga la Comisión de Doctorado de la Universidad de La Laguna.*

*La Laguna a, 8 de octubre de 1998.-*

Prof. Dr. Manuel Rodríguez Díaz

***A la memoria de mi madre y hermano.***

---

El Prof. Dr. Manuel Rodríguez Díaz por su constante orientación, disposición y colaboración en el desarrollo de esta tesis

La Agencia española de cooperación Internacional y el Dr. José A. Obeso por su apoyo para la finalización de este trabajo

Comprometen mi gratitud y aprecio.

---

# ÍNDICE

## Capítulo 1.-Introducción

1.1.-MARCO TEÓRICO .....	1
1.1.1.-Nomenclatura de los ganglios basales .....	1
1.1.2.-Topografía y citoarquitectura de los núcleos de los ganglios basales	7
1.1.2.1.-Estriado .....	8
1.1.2.1.1-Topografía .....	8
1.1.2.1.2-Neuronas estriatales.....	9
1.1.2.2.-Globo pálido .....	10
1.1.2.2.1-Topografía .....	10
1.1.2.2.2.-Neuronas palidales.....	11
1.1.2.3.-Núcleo entopeduncular .....	11
1.1.2.3.1.-Topografía.....	11
1.1.2.3.2.-Neuronas entopedunculares.....	11
1.1.2.4.-Núcleo subtalámico .....	12
1.1.2.4.1.-Topografía.....	12
1.1.2.4.2.-Neuronas subtalámicas .....	12
1.1.2.5.-Sustancia negra .....	13
1.1.2.5.1.-Topografía.....	13
1.1.2.5.2.-Neuronas de la SNC.....	14
1.1.2.5.3.-Características electrofisiológicas de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra compacta .....	15
1.1.2.5.4.-La sustancia negra reticulada .....	15
1.1.2.6.-Núcleo pedunculopontino tegmental .....	16
1.1.2.6.1.-Topografía.....	16
1.1.2.6.2.-Neuronas del PPTg.....	17
1.1.2.6.3.-Características electrofisiológicas de las neuronas del PPTg...	17
1.1.2.7.-Núcleo mesencefálico profundo.....	18
1.1.2.7.1.-Topografía.....	18
1.1.2.7.2.-Neuronas del DpMe .....	19
1.1.3.-Conexiones de los núcleos de los núcleos basales .....	20
1.1.3.1.- Proyecciones aferentes del estriado .....	20
1.1.3.1.1.- Proyección corticoestriatal .....	21
1.1.3.1.2.- Proyección talámoestriatal.....	22

1.1.3.1.3.- Proyecciones del tronco del encéfalo .....	23
1.1.3.2.- Proyecciones eferentes del estriado .....	24
1.1.3.2.1.- Proyecciones estriopalidal y estrionigral .....	25
1.1.1.3.2.- Proyección estriocortical .....	26
1.1.3.2.3.- Proyección estriosubtalámica .....	27
1.1.3.3.- Proyecciones aferentes del pálido .....	27
1.1.3.3.1.- Proyección estriopalidal .....	27
1.1.3.3.2.- Otras proyecciones del tronco del encéfalo .....	28
1.1.3.4.- Proyecciones eferentes del pálido .....	29
1.1.3.4.1.- Proyección palidosubtalámica .....	29
1.1.3.4.2.- Proyección palidoestriatal/palidonigral .....	29
1.1.3.4.3.- Proyección palidotalámica .....	30
1.1.3.5.- Proyecciones eferentes del núcleo entopeduncular .....	30
1.1.3.5.1.- Proyección entopedunculotalámica .....	30
1.1.3.5.2.- Proyección entopedunculohabenular .....	31
1.1.3.5.3.- Proyección palidotegmental .....	31
1.1.3.6.- Proyecciones aferentes del núcleo subtalámico .....	32
1.1.3.6.1.- Proyección corticosubtalámica .....	33
1.1.3.6.2.- Proyección tegmentosubtalámica .....	33
1.1.3.7.- Proyecciones eferentes del núcleo subtalámico .....	33
1.1.3.7.1.- Proyección subtalámopalidal .....	34
1.1.3.7.2.- Otras proyecciones subtalámicas .....	35
1.1.3.8.- Proyecciones aferentes de la sustancia negra compacta .....	36
1.1.3.8.1.- Proyección palidonigral .....	36
1.1.3.8.2.- Proyección corticonigral .....	36
1.1.3.9.- Proyecciones eferentes de la sustancia negra compacta .....	37
1.1.3.9.1.- Proyección nigroestriatal .....	37
1.1.3.9.2.- Proyección nigrocortical .....	38
1.1.3.9.3.- Otras proyecciones de la SNC .....	38
1.1.3.10.- Proyecciones aferentes de la sustancia negra reticulada .....	39
1.1.3.10.1.- Proyección estrionigral .....	39
1.1.3.10.2.- Proyección subtalámonigral .....	39
1.1.3.10.3.- Proyecciones del tronco del encéfalo .....	39
1.1.3.11.- Proyecciones eferentes de la sustancia negra reticulada .....	39
1.1.3.11.1.- Proyección nigrotalámica .....	40
1.1.3.11.2.- Proyección nigrocolícular .....	40

1.1.3.11.3.-Proyección nigrotgmental .....	41
1.1.3.12.- Proyecciones aferentes al núcleo pedunculopontino tegmental ....	42
1.1.3.13.- Proyecciones eferentes del núcleo pedunculopontino tegmental ...	43
1.1.3.14.- Proyecciones aferentes al núcleo mesencefálico profundo .....	44
1.1.3.14.1.- Proyección cortico-DpMe .....	44
1.1.3.14.2.- Proyección subtalámotegmental .....	45
1.1.3.14.3.- Proyección SC-DpMe .....	45
1.1.3.14.4.- Proyecciones del cerebelo .....	45
1.1.3.14.5.- Proyecciones de la médula oblongada .....	46
1.1.3.15.- Proyecciones eferentes del núcleo mesencefálico profundo .....	46
1.1.4.- El modelo de organización funcional de los ganglios basales.....	47
1.1.5.- Los núcleos basales y la organización del movimiento .....	50
1.1.6.- Los núcleos basales en los movimientos de rotación y el control postural ..	50
1.1.7.- Enfermedades de Parkinson .....	52
1.1.8.- Los modelos experimentales de la enfermedad de Parkinson .....	55
1.1.8.1.- El modelo MPTP .....	57
1.1.8.2.-El modelo rotacional de Ungersted .....	60
1.1.9.-Núcleos basales, neurotransmisión dopaminérgica y enfermedad de Parkinson .....	64
1.2.-OBJETIVOS GENERALES DE LA PRESENTE MEMORIA .....	75

## **Capítulo 2.- Material y Método**

2.1.- MÉTODO ELECTROFISIOLÓGICO DE REGISTRO .....	78
2.1.1.- Sistema de registro .....	78
2.1.2.- Estimulación eléctrica .....	79
2.1.2.1.- Animales y anestesia .....	80
2.1.2.2.- Cirugía estereotáxica .....	80
2.1.2.3.- Construcción de microelectrodos .....	80
2.1.2.4.- Identificación de neuronas .....	81
2.1.2.5.- Protocolo de registro .....	81
2.1.3.- Análisis computarizado de la actividad neuronal .....	82
2.1.4.- Análisis estadístico .....	82
2.1.5.- Técnica histológica .....	83
2.2.- MÉTODO DE LESIONES CEREBRALES .....	83
2.2.1.- Preparación del neurotóxico .....	84

2.2.2.- Animales y anestesia .....	84
2.2.3.- Cirugía estereotáxica .....	84
2.2.3.1.- Ratas lesionadas .....	84
2.2.3.2.- Ratas control .....	84
2.2.4.- Prueba de rotaciones.....	85
2.2.5.- Preparación del agonista dopaminérgico .....	85

### **Capítulo 3.-Resultados y Discusión**

3.1-MUESTRA EXPERIMENTAL .....	86
3.2.-EXPERIMENTO 1:	
<i>Evaluación de la acción de las proyecciones estriónigrales sobre la actividad de la sustancia negra reticulada. ....</i>	<i>90</i>
3.2.1.-Objetivos: .....	90
3.2.2.-Diseño experimental .....	90
3.2.3.-Material y método .....	90
3.2.4.-Resultados .....	91
3.2.5.-Discusión .....	97
3.3.-EXPERIMENTO 2:	
<i>Acción estriatal sobre la actividad electrofisiológica de las neuronas del núcleo mesencefálico profundo. ....</i>	<i>103</i>
3.3.1.-Objetivos: .....	103
3.3.2.-Diseño experimental .....	103
3.3.3.-Material y método .....	103
3.3.4.-Resultados .....	104
3.3.5.-Discusión .....	112
3.4.- EXPERIMENTO 3:	
<i>Evaluación de la acción del PPTg sobre la actividad electrofisiológica de las neuronas de la SNR y el DpMe en ratas control y lesionadas.....</i>	<i>115</i>
3.4.1.-Objetivo .....	115
3.4.2.-Diseño experimental .....	115
3.4.3.-Material y método .....	115
3.4.4.-Resultados .....	116
3.4.5.- Discusión .....	119

### **Capítulo 4.-Comentario final**

4.1.-UN COMPONENTE EXCITADOR PARA LA PROYECCIÓN ESTRIONIGRAL .	121
4.2.- EL DpMe COMO CENTRO DE SALIDA DE LOS NÚCLEOS BASALES .....	123
5.- Conclusiones .....	126
6.- Referencias .....	129

## Lista de abreviaturas

---

AADC	enzima decarboxilasa de los <i>L</i> -aminoácidos aromáticos
Acb	<i>nucleus accumbens</i>
ACh	acetilcolina
AChE	acetilcolinesterasa
APO	apomorfinina
BN	núcleos o ganglios basales
CA	catecolamina
CAérgica	catecolaminérgica
CPu	núcleo caudado-putamen o estriado
CM	núcleo centromediano del tálamo
CM-PF	complejo centromediano-parafascicular
CNS	sistema nervioso central
5-HTérgica	serotoninérgica
CV	coeficiente de variación
DABH	enzima dopamina- <b>b</b> hidroxilasa
D <sub>1</sub>	receptor DAérgico 1
D <sub>2</sub>	receptor DAérgico 2
D <sub>3</sub>	receptor DAérgico 3
D <sub>4</sub>	receptor DAérgico 4
DYN	dinorfina
ENK	encefalina
EP	núcleo entopeduncular
EPSPs	potencial postsináptico excitatorio
GABA	ácido $\gamma$ -aminobutírico
GABAérgicas	gabaérgicas
GLU	glutamato
GLUérgicas	glutamatérgicas
GP	globo pálido
GPe	globo pálido, segmento externo
GPi	globo pálido, segmento interno
HRP	peroxidasa del rábano
HVA	ácido homovanilíco
IPSPs	potencial postsináptico inhibitorio
LCR	líquido cefalo raquídeo
<i>L</i> -DOPA	<i>L</i> -3,4-hidroxifenilalanina o levodopa
LHb	núcleo habenula lateral
LDTg	núcleo laterodorsal tegmental
MPPP	1-metil-4-fenil-4-propionoxi-piperidina
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6- tetrahidroxipiridina

NA	noradrenalina
no-DAérgicas	no dopaminérgicas
PD	enfermedad de Parkinson
PF	núcleo parafascicular del tálamo
PHAL	<i>Phaseolus vulgaris</i>
PPTg	núcleo pedunculopontino tegmental
RF	formación reticular
R	núcleo rojo
6-OHDA	6-hidroxidopamina
SC	colículo superior
SK	sustancia K
SN	sustancia negra
SNC	sustancia negra compacta
SNR	sustancia negra reticulada
SNL	sustancia negra lateral
SP	sustancia P
STh	núcleo subtalámico
VA	núcleo ventralanterior del tálamo
VL	núcleo ventrolateral del tálamo
VTA	área tegmental ventral

# **Capítulo 1**

## **Introducción**

# 1.-INTRODUCCION

## 1.1.-Marco teórico

### *1.1.1.-Nomenclatura de los núcleos basales*

Los núcleos basales (BN) o ganglios basales constituyen uno de los principales sistemas neurales a través del cual el córtex cerebral influye sobre la conducta, las funciones de los BN son, en gran parte desconocidas, aunque por mucho tiempo se les ha involucrado casi exclusivamente en el control de los movimientos. Sin embargo, ahora se acepta su participación en una amplia variedad de funciones que incluyen tanto aspectos motores, cognoscitivos, motivacionales y emocionales de la conducta (Gerfen, 1992; Deniau y Thierry, 1997).

El análisis de la función motora de los BN se complica por el hecho de que estos, no reciben información sensorial y sensitiva directa desde la periferia, sino que reciben información procesada primariamente en el córtex cerebral y en los núcleos intralaminares del tálamo. Tampoco proyecta directamente sobre la médula espinal sino que, por el contrario, forman varios circuitos donde la información fluye desde el córtex hacia el estriado y luego hasta los núcleos más caudales del tronco del encéfalo y, a través del tálamo, en su mayor parte la información retorna al córtex (De Long y Georgopoulos, 1981).

Por otra parte, los términos “núcleos o ganglios basales” y “sistema extrapiramidal” no tienen una definición precisa y han sido usado en diferentes sentidos a través de los años (Parent, 1986).

En un comienzo el término BN fue usado por los neuroanatomistas para referirse a todos los núcleos subcorticales que se encuentran en la base del cerebro; que incluyen al núcleo caudado y

putamen (globalmente referidos como estriado o neostriado<sup>1</sup>), el tálamo, el globo pálido (pálido o paleostriado), cuerpo amigdalino (o arquiestriado) y claustro (Parent, 1986).

Actualmente, la mayoría de los neurobiólogos implica a unos pocos núcleos subcorticales cuya participación en la conducta motora está bien establecida o fuertemente sospechada, que incluyen principalmente tanto al estriado como al pálido, y otros núcleos estrechamente relacionados (Parent, 1986).

El tálamo, el cuerpo amigdalino y el claustro no son incluidos, aunque les correspondería por definición topográfica de núcleos subcorticales y a pesar de que algunos núcleos del tálamo y cuerpo amigdalino contribuyen directamente al control de las actividades motoras (Parent, 1986).

El tálamo se proyecta al córtex, al estriado, GP y al STh a través de los núcleos intralaminares anteriores y el complejo centromediano-parafascicular (CM-PF), que serían un importante componente de los circuitos motores de los BN, el CM estaría relacionado con el circuito sensitivomotor y el PF con el circuito límbico-asociativo (Parent, 1990).

El cuerpo amigdalino es considerado como parte integrante del sistema límbico y por sus conexiones juega un importante rol en la interacción de ambos sistemas (motor y límbico) (Parent, 1986).

---

<sup>1</sup> La denominación de neostriado se debe a su reciente aparición filogenética respecto a otros núcleos como el globo pálido que forma el paleostriado. Se asume que el estriado de peces consiste principalmente en un pálido (o paleostriado) que recibe entradas olfativas y gustativas, las entradas somáticas ascendentes aparecen supuestamente en los anfibios, mientras que la proyección talámoestriatal, que produce la ulterior diferenciación del estriado (o neostriado) aparece en los reptiles (Parent, 1986).

Por otra parte, el claustró no presenta conexiones con el estriado o pálido y nunca ha sido implicado en alguna enfermedad característica de los BN (Parent, 1986; Parent, 1990).

El putamen y el globo pálido (GP) juntos forman una unidad topográfica llamada núcleo lentiforme, este término es frecuentemente usado en un contexto topográfico, ya que ambos núcleos son histológica e histoquímicamente diferentes (Alheid, Heimer y Switzer, 1990).

El GP en humanos y primates está dividido por la lámina medular interna en un segmento interno (GPi) y otro externo (GPe). En las demás especies de mamíferos no-primates el término GP (GP) se refiere al segmento externo y el núcleo entopeduncular (EP) es considerado homólogo del segmento interno (Alheid, Heimer y Switzer, 1990).

El término cuerpo estriado se usa ocasionalmente para designar colectivamente a los núcleos caudado, putamen y GP o sólo a los núcleos caudado y putamen (Parent, 1986; Alheid, Heimer y Switzer, 1990).

Lennart Heimer y cols. en 1975 basándose en la distribución de la tinción de la acetilcolinesterasa (AChE) introdujeron los términos estriado ventral y pálido ventral para designar a las extensiones más ventrales de los BN hasta el tubérculo olfatorio en los mamíferos no-primates, de modo que el estriado se divide principalmente por sus conexiones en estriado dorsal y estriado ventral (Parent, 1986).

El estriado ventral, está constituido por el *nucleus accumbens*, la parte ventromedial de los núcleos caudado y putamen y una extensa parte del tubérculo olfatorio, está conectado con el sistema límbico, la formación hipocámpal y el área tegmental ventral (VTA) y sus funciones están relacionadas con aspectos emocionales de la conducta (Heimer, Alheid y Zaborszky, 1985; Alheid, Heimer y Switzer, 1990; Mena y García, 1990).

El estriado dorsal corresponde a lo que clásicamente se conoce como núcleos caudado y putamen, recibe principalmente conexiones de el córtex cerebral y se proyectan fundamentalmente hacia las estructuras palidales. Su función se relaciona principalmente con aspectos motores. Similarmente el pálido dorsal puede ser identificado con el pálido (Parent, 1986; Alheid, Heimer y Switzer, 1990; Mena y García, 1990).

El término "extrapiramidal" fue usado por primera vez en 1898 por Jan Prus, un neurólogo de Lemberg (Austria) y términos como proyección extrapiramidal eran frecuentemente empleados a fines del siglo XIX por miembros de la escuela neurológica de Viena dirigida por Theodor Meynert. El término "sistema extrapiramidal" fue acuñado por Samuel Alexander Kinnier Wilson en 1912 en su artículo de 212 páginas publicado en la revista *Brain* sobre la enfermedad que lleva su nombre y que él denominó degeneración hepatolenticular. Asumió erróneamente que los BN no tenían conexión con el córtex cerebral y se conectaban con otros núcleos del tronco del encéfalo involucrados en la conducta motora y cuyos axones no cursaban por la vía piramidal siendo independientes del córtex y el sistema piramidal. Evidentemente, la existencia de dos sistemas motores independientes, el piramidal y el extrapiramidal, no ha sido apoyada por posteriores observaciones básicas y clínicas. También es inapropiado desde el punto de vista evolutivo, ya que carece de sentido hablar de sistema o estructuras extrapiramidales en un grupo de vertebrados como los reptiles, que poseen unos BN bien desarrollados pero carecen de un sistema motor piramidal bien definido (De Long y Georgopoulos, 1981; Parent, 1986; Mena y García, 1990).

El término BN será usado para referirse a un conjunto anatómico y funcionalmente interconectado de núcleos subcorticales que se encuentran en el telencéfalo, diencefalo y mesencéfalo (Albin, Young y Penney, 1989) y como su nombre indica, incluyen un grupo de estructuras

profundas, situadas en la parte basal del telencefalo; los núcleos caudado y putamen o estriado, junto al GP, que se encuentra en el diencefalo; a los que se les asocian otros dos núcleos que funcionalmente, actúa en conjunción con el sistema estriatopallidal: el núcleo subtalámico (STh), recíprocamente conectado con el GP y la sustancia negra (SN), interconectada con el estriado, que se encuentra en el mesencefalo (Graybiel, 1990). El núcleo pedunculopontino tegmental (PPTg), es uno de los principales blancos de las proyecciones descendentes de los diversos núcleos de los BN y es una fuente de importantes vías ascendentes, estableciendo conexiones recíprocas con varios de ellos. Es considerado parte integrante de los BN, desde que se descubrieron sus conexiones con el STh en ratas, gatos y monos (Heimer, Alheid y Zaborszky, 1985; Alheid, Heimer y Switzer, 1990).

También se suele incluir el núcleo rojo (R) y la formación reticular (RF) del tronco del encéfalo (Carpenter, 1981; Mena y García, 1990). Pero, el R no tiene conexiones con los núcleos de los BN y funciona en íntima asociación con el tracto corticoespinal, recibiendo aferencias directas del córtex motor primario y tracto corticoespinal. El tracto rubrospinal tiene una trayectoria adyacente y terminaciones simultáneas con el tracto corticoespinal y la vía corticorubrospinal funciona como una ruta accesoria de señales relativamente discretas desde el córtex cerebral hasta la médula espinal (Guyton y Hall, 2001).

A continuación se describirá brevemente la organización funcional de los BN. Dado que la gran mayoría de los estudios se han efectuado en ratas, gatos y varias especies de monos, se hará especial mención de sus estructuras constituyentes en mamíferos: roedores, felinos y primates.

En este marco teórico, se revisará en primer lugar la localización topográfica, luego la organización celular indicando los principales tipos neuronales y después las conexiones anatómicas de los núcleos de los

BN. Posteriormente, se comentará el modelo actual de organización funcional de los BN y la participación de sus núcleos en los movimientos de rotación y control postural y un análisis de los modelos experimentales de la enfermedad de Parkinson (PD). Finalmente, se hará un resumen cronológico de los principales progresos en el conocimiento de la anatomía y fisiología de los BN y el sistema dopaminérgico (DAérgico) nigroestriatal.

La rata ha sido por mucho tiempo el animal más usado en neurociencias, debido a su tamaño, resistencia a las infecciones y disponibilidad. En los últimos años, su uso se ha incrementado especialmente en neurohistoquímica. Además, con el aumento de la presión pública contra el uso de mamíferos de mayor tamaño (gatos, conejos y monos) muchos laboratorios han optado por el uso de pequeños roedores. De este modo, el investigador encuentra abundante información para indagar y contrastar (Paxino y Watson, 1986).

Se ha adoptado la nomenclatura inglesa por ser la más frecuentemente empleada (cerca del 85% de los artículos en neurociencias) (Paxino y Watson, 1986). Sólo excepcionalmente, se emplean algunos términos de la *Nomina anatomica* (latina) con amplio uso y que aún no tienen traducción (como por ejemplo: *nucleus accumbens*, *locus coeruleus*, etc.). En tal caso, la palabra estará escrita en cursiva. Los nombres de los núcleos se han abreviado siguiendo al "The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates" (Paxino y Watson, 1986), y de los neurotransmisores y sus enzimas, según la revista "European Journal of Neurosciences". Se evitarán los términos confusos, tales como: sistema o estructuras extrapiramidales, núcleo lentiforme, cuerpo estriado, neostriado, paleostriado, estriado ventral, estriado dorsal, etc. y procurado reducir los sinónimos (Paxino y Törk, 1990).

### ***1.1.3.-Topografía y citoarquitectura de los núcleos de los núcleos basales***

Las neuronas de los distintos núcleos de los BN pueden ser fácilmente distinguibles de las células gliales, todas tienen un gran núcleo pálido, de forma esférica o ligeramente ovoide y con un prominente nucléolo, su citoplasma es notable y contiene frecuentemente cuerpos de Nissl. También en la mayoría de los núcleos (excepto en el STh) se pueden encontrar algunas neuronas con un núcleo más homogéneamente teñido (Oorschot, 1996).

Ambos tipos de neuronas se pueden diferenciar claramente de las células gliales, que son más pequeñas e intensamente teñidas, con astrocitos distinguibles por su pequeño tamaño y periféricos grumos de cromatina en su núcleo (Oorschot, 1996).

Para comprender la importancia funcional de cualquier circuito neuronal, es fundamental conocer las características morfológicas y fisiológicas de las neuronas que forman los núcleos, tales como: tipos neuronales, patrón de arborización dendrítica y axonal, como también los neurotransmisores, las propiedades de sus membranas y los potenciales sinápticos (Nambu y Llinás, 1997).

La descripción y clasificación de las neuronas de los BN se basa en el tamaño del cuerpo neuronal, la forma de los procesos neuronales y la presencia y cantidad de espinas dendríticas (Heimer, Alheid y Zaborszky, 1985). Cada uno de los núcleos está formado por millares de neuronas, la mayoría de las cuales son neuronas de proyección, cuyos axones traspasan los límites nucleares. Las interneuronas forman solo una pequeña fracción (Bergman, et al., 1998).

### 1.1.2.1.-Estriado

#### 1.1.2.1.1-Topografía

El núcleo caudado y el núcleo putamen son dos núcleos histológicamente idénticos que forman la mayor masa subcortical de sustancia gris con forma de lente, ocupando la parte más profunda de los hemisferios cerebrales. A diferencia de otros mamíferos con un mayor desarrollo cortical (como carnívoros y primates), en los que ambos núcleos están parcialmente separados por la cápsula interna que agrupa a todas las fibras corticopetalas y corticofugales, el estriado de los roedores está formado por un solo núcleo llamado caudado-putamen (CPu) cruzado por las diversas fibras corticales que le confieren una apariencia estriada (Heimer, Alheid y Zaborszky, 1985; Alheid, Heimer y Switzer, 1990).

En las secciones frontales del cerebro de rata, el CPu aparece limitado anteriormente, tanto en su parte superior como lateral, por la sustancia blanca subyacente al córtex cerebral; lateralmente, por el ventrículo lateral; inferiormente, en la parte anterior, está separado del *nucleus accumbens* (Acb) por una línea imaginaria que pasa por la parte superior de la proyección más medial del córtex piriforme y el cuerno temporal del ventrículo lateral, y en la parte posterior, está limitado por la notable expansión lateral de la parte posterior de la comisura anterior, que lo separa del GP (Oorschot, 1996).

Posteriormente, el CPu disminuye de tamaño, adoptando una posición más lateral e inferior en el hemisferio cerebral, quedando entre la sustancia blanca subcortical y el GP, lateralmente; la cápsula interna y el ventrículo lateral, medialmente. Más posteriormente aún, su cónica extremidad final se extiende más allá del extremo posterior del GP y permanece lateralmente a la expansión lateral del ventrículo lateral y al hipocampo asociado a ella (Oorschot, 1996).

#### 1.1.2.1.2-Neuronas estriatales

En el estriado se encuentran neuronas grandes, medianas y pequeñas, la gran mayoría de ellas son de proyección y una muy pequeña cantidad de interneuronas. El principal tipo de neurona de proyección es la neurona de tamaño mediano, cuyas dendritas están densamente cubiertas de espinas dendríticas (Goldman-Rakic y Selemon, 1990). Constituyen el 96% de las neuronas teñidas con la tinción de Golgi en el núcleo caudado del gato (Smith y Bolam, 1990) y su número total por cada núcleo en la rata se estima en 2. 790.000 neuronas (Oorschot, 1996).

Las neuronas espinosas medianas se pueden dividir en dos subpoblaciones; según su núcleo de proyección, el empleo de diferentes neuropéptidos como coneurotransmisores y los subtipos de receptores DAérgicos. Una de estas subpoblaciones, proyecta hacia la SNR, mediante una "vía directa", monosináptica (la vía estrionigral), que emplea además del GABA, los neuropéptidos: sustancia P (SP) y dinorfina (DYN) como coneurotransmisores y los receptores D<sub>1</sub>. La otra subpoblación proyecta al GP, por la "vía indirecta", polisináptica (la vía estriopalidal), también GABAérgica, empleando encefalina (ENK) como coneurotransmisor y receptores D<sub>2</sub> (Yung, et al., 1996).

Por otra parte, en el estriado de mamíferos se ha encontrado una compartimentalización en la estructura, conexiones, distribución de neurotransmisores, receptores, enzimas de síntesis o degradación y puntos de recaptación de precursores; inicialmente, mediante la acetilcolinesterasa (AChE) como marcador histoquímico se ha demostrado la existencia de islotes irregulares con baja actividad de AChE llamados estriosomas, rodeados por una matriz con alta actividad en AChE (Mena y García, 1990).

Los estriosomas también tienen elevada densidad de péptidos opiáceos y receptores opiáceos  $\mu$  receptores muscarínicos  $M_1$  y DAérgicos  $D_1$ , con alta actividad de tirosina hidroxilasa (TH) y por lo tanto alta concentración de catecolaminas (CA) (Mena y García, 1990).

La matriz contiene la mayoría de los cuerpos y dendritas de las neuronas AChérgicas, los principales lugares de recaptación de colina, una baja cantidad de receptores opiáceos  $\mu$  y  $\kappa$  y principalmente receptores muscarínicos  $M_2$  y DAérgicos  $D_2$ . Los estriosomas reciben proyecciones desde el córtex prefrontal, prelímbico, límbico e insulotemporal y la amígdala basolateral; la matriz recibe proyecciones desde el córtex motor y sensitivo, de las neuronas DAérgicas del VTA, el área retrorubral y la parte dorsal de la SNC (Mena y García, 1990).

#### 1.1.2.2.-Globo pálido

##### 1.1.2.2.1-Topografía

En primates el GP está dividido por la lámina medular interna en dos segmentos, un segmento interno (GPi) y otro externo (GPe). Además en algunos primates como en el hombre, el GPi está a su vez subdividido equitativamente por una lámina medular accesoria. En los mamíferos no-primates, el GPi está desplazado medialmente y aislado por fibras de la cápsula interna y del pedúnculo cerebral. Así, en roedores y carnívoros ambos segmentos del pálido están muy separados, el GPe es conocido como GP y el GPi como EP (Carpenter, 1981; Parent, 1986).

El GP en las secciones frontales del cerebro de rata, se encuentra posterior y medial al CPu, comienza a nivel de la expansión lateral de la parte posterior de la comisura anterior y, a través, de una abertura de la expansión, su parte más anterior se continúa con el pálido ventral. Caudalmente, su límite inferior coincide inicialmente con el CPu; luego

se hace más delgado y se orienta más medialmente. Posteriormente, disminuye de tamaño y se sitúa más lateralmente entre el CPu, y la cápsula interna, medialmente (Oorschot, 1996).

#### 1.1.2.2.2.-Neuronas palidales

El GP presenta una menor densidad neuronal que el CPu (aproximadamente 45.960 neuronas) y con un predominio de las neuronas de proyección grandes, que le confieren su distintiva apariencia pálida (Oorschot, 1996). Se han identificado dos principales tipos de neuronas grandes de proyección (tipos I y II, que conforman aproximadamente el 70%) y un reducido grupo de interneuronas pequeñas (tipo III) (Nambu y Llinás,1997).

#### 1.1.2.3.-Núcleo entopeduncular

##### 1.1.2.3.1.-Topografía

El EP aparece como un pequeño y tenue núcleo en las secciones frontales del cerebro de rata al terminar el CPu, detrás del GP y algo por delante del pedúnculo cerebral, haciéndose más notorio en las secciones más posteriores y terminando justo al comenzar el STh. Como su nombre indica se encuentra rodeado en toda su extensión por la sustancia blanca del pedúnculo cerebral (Oorschot, 1996).

##### 1.1.2.3.2.-Neuronas entopedunculares

En contraste con el estriado, esta formado principalmente por grandes neuronas de proyección, entremezcladas con fibras provenientes del pedúnculo cerebral (Parent,1986). El número total de neuronas en el EP de la rata se estima en 3.170 (Oorschot, 1996).

#### 1.1.2.4.-Núcleo subtalámico

El STh existe sólo en los mamíferos. Aunque de tamaño comparativamente pequeño y de forma ovalada, alcanza mayores dimensiones en los primates y en el hombre. En el hombre alcanza un volumen de 160 mm<sup>3</sup>, el cual es 15 veces mayor que el volumen del macaco. No obstante, su tamaño relativo comparado con el volumen total del encefálo es similar al humano (Carpenter, 1981; Williams y Warwick, 1996).

##### 1.1.2.4.1.-Topografía

El STh aparece en las secciones frontales del cerebro de rata en la parte posterior del CPu como un pequeño núcleo de forma irregular que posteriormente adquiere una forma ovoidea alargada, y como se puede suponer, se encuentra debajo del tálamo, detrás de ambas porciones del pálido (Oorschot, 1996), dorsomedialmente a la parte peduncular de la cápsula interna y el pedúnculo cerebral, caudalmente se superpone a las extensiones más rostrales de la SN, mientras que rostralmente alcanza hasta las porciones más mediales del EP (Heimer, Alheid y Zaborszky, 1985). Su borde dorsal limita claramente con la zona incerta y su borde medial menos claro limita con el hipotálamo lateral (Carpenter, 1981).

##### 1.1.2.4.2.-Neuronas subtalámicas

El STh esta formado por una homogénea colección de neuronas, que a diferencia del GP y el EP, tiene una alta densidad neuronal. La cantidad total de neuronas en la rata se estima en 13.560 (Oorschot, 1996).

Estudios con el método de Golgi en roedores y primates han demostrado que, al igual que el estriado, el STh está densamente poblado por neuronas medianas de proyección. A estas se suman, unas pocas interneuronas, que representan menos del 5%, lo que le confiere una apariencia homogénea (Carpenter, 1981; Heimer, Alheid y Zaborszky, 1985; Parent, 1990).

#### 1.1.2.5.-Sustancia negra

##### 1.1.2.5.1.-Topografía

La SN se encuentra dorsalmente a los pedúnculos cerebrales y se extiende rostrocaudalmente a lo largo de todo el mesencefalo (Carpenter, 1981; Parent, 1986). Desde los primeros estudios de Minguzzi en 1888 y Sano en 1910, ha sido dividida en dos porciones macroscópicas; una porción dorsal rica en neuronas que contienen neuromelanina (pigmento oscuro observable en las secciones de mesencefalo especialmente en el hombre y algunos primates) llamada sustancia negra compacta (SNC) (Parent, 1986). En la rata forma una delgada capa de 4 a 10 neuronas de espesor adosada a la parte dorsal del núcleo. En la región más ventral se encuentra una porción más voluminosa con forma de ovoide aplanada y más pobre en células llamada sustancia negra reticulada (SNR). Aunque se ha distinguido también una porción lateral (SNL), la mayoría de los autores la incluyen en la porción reticulada (Fallon y Loughlin, 1985). Las dos principales divisiones de la SN pueden ser fácilmente diferenciables por sus neurotransmisores: las neuronas de la SNC contienen altas concentraciones de DA, mientras que las neuronas de la SNR contienen GABA (Heimer, Alheid y Zaborszky, 1985; Conde, 1992).

En las secciones frontales del cerebro de rata, la SN comienza a aparecer en cuanto termina el STh, como una pequeña aglomeración de grandes neuronas de baja densidad en el polo inferior del pedúnculo

cerebral, pero luego aparece acompañada por una lámina neuronal densamente poblada sobre su borde dorsomedial. A este nivel también comienza a aparecer un pequeño grupo de neuronas triangulares y oscuras, pertenecientes a la SNL. En las secciones más caudales, la SNC comienza a disminuir y desplazarse supero-lateralmente, mientras que la SNR se hace más voluminosa y ovoidea. Después la expansión superolateral regresa y la SNC termina situándose en el extremo inferomedial en las últimas secciones de la SNR, cuando empieza a parecer el R (Oorschot, 1996).

#### 1.1.2.5.2.-Neuronas de la SNC

Tres tipos de neuronas se han descrito en la SN: las neuronas grandes que se encuentran principalmente en la SNR; las neuronas medianas más abundantes en la SNC y las neuronas pequeñas en ambas porciones (Carpenter, 1981).

Aunque las neuronas DAérgicas son muy abundantes en la SNC (aproximadamente 7.200 en la rata), se las puede encontrar por todo el mesencéfalo, incluso en la SNR (Heimer, Alheid y Zaborszky, 1985; Oorschot, 1996). Además de las técnicas de histofluorescencia e inmunohistoquímica, estas neuronas pueden ser distinguidas de las neuronas no-DAérgicas con la tinción de Nissl, por contener grandes masas de la sustancia de Nissl (Parent, 1986).

Las neuronas DAérgicas, tienen un cuerpo neuronal mediano, localizado en la SNC y presenta varios procesos dendríticos principales, generalmente 3 a 6 que se pueden bifurcar hasta 4 veces, irradiándose ventralmente. Una o dos dendritas principales se introducen en la SNR. El axón se origina de una de las dendritas principales, no es mielinizado y no emite colaterales dentro de la SN, cursando por el hipotálamo lateral, hasta el estriado. Las demás dendritas se ramifican en la SNC,

existiendo un gran solapamiento de las arborizaciones dendríticas debido a la densidad neuronal de la SNC (Castellano, 1991).

Además de las neuronas DAérgicas, la SNC contiene una pequeña proporción (18%) de neuronas no-DAérgicas de tamaño pequeño y forma estrellada, cuyas dendritas no sobrepasan los límites nucleares (Castellano, 1991).

#### 1.1.2.5.3.-Características electrofisiológicas de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra compacta

En un estudio anterior efectuado en este Laboratorio, se identificaron y compararon las características electrofisiológicas de las neuronas DAérgicas nigroestriatales de la SNC, izquierda y derecha (Castellano, 1991); resultando con características similares a las presentadas por otros autores (Bunney et al., 1973; Deniau, et al., 1978; Guyenet y Aghajanian, 1978; Grace y Bunney, 1980; Grace y Bunney, 1983; Grace y Bunney, 1983b; Chiodo, 1988). Tales características en ratas anestesiadas con hidrato de cloral eran: potenciales de acción con forma de onda trifásica, con la primera fase positiva; forma de onda ancha, con una duración media superior a 2,5 ms. (y un rango de 2 a 5 ms.); frecuencia media espontánea de descarga de 4,04 potenciales/s. durante los 4 min. de registro basal y una moda de 3 o 4 potenciales/s. También algunas presentaban ocasionalmente cortas ráfagas con progresiva disminución de la amplitud del potencial de acción. La media de la latencia a la respuesta antidrómica por estimulación estriatal homolateral, fue de  $10,47 \pm 0,2$  ms. y la velocidad de conducción  $0,58 \pm 0,01$  m/s.

#### 1.1.2.5.4.-La sustancia negra reticulada

La SNR tiene una menor concentración de cuerpos neuronales (aproximadamente 26.320 neuronas) (Oorschot, 1996) y está constituida por una población heterogénea de neuronas GABAérgicas, mayoritariamente neuronas de proyección de tamaño grande y mediano, además de pequeñas interneuronas de forma estrellada (29%) (Castellano, 1991).

La baja densidad neuronal de la SNR es anatómicamente muy similar a la del GP y EP. La SNR por su citología, conexiones, neuroquímica y fisiología puede ser considerada como una prolongación caudomedial del GPi/EP. Aunque parece tener un diferente origen embriológico, ambas estructuras son consideradas homologas (Carpenter, 1981; Alheid, Heimer y Switzer, 1990).

Las neuronas medianas tienen un cuerpo neuronal de forma variable: triangular, fusiforme, ovoideo o poligonal, con 3 a 5 dendritas primarias de grosor variable que se originan del cuerpo neuronal. Las dendritas mayores, se originan de los polos de las neuronas fusiformes o triangulares, dividiéndose dicotómicamente a corta distancia del cuerpo. Las dendritas terciarias, por lo general, aparecen a gran distancia, cerca de las dendritas terminales, son delgadas, tortuosas y con varicosidades y no sobrepasan los límites de la SNR. Los axones están mielinizados y se originan del cuerpo o las dendritas primarias. La mayoría de ellos emite entre 1 a 5 colaterales, algunas de las cuales terminan en la SNR o SNC. Esta colaterización permite que una misma neurona pueda proyectarse a 2 o 3 núcleos tanto homo como contralateralmente. Las neuronas grandes, tienen un cuerpo voluminoso de forma triangular o poligonal (Castellano, 1991).

#### 1.1.2.6.-Núcleo pedunculopontino tegmental

##### 1.1.2.6.1.-Topografía

El tronco del encéfalo de los mamíferos contiene una gran acumulación de neuronas colinérgicas que forman el tegmento mesencefálico pedunculopontino, la mayoría de estas neuronas se concentra en dos núcleos, el pedunculopontino tegmental (PPTg) y el laterodorsal tegmental (LDTg), ambos núcleos contienen neuronas colinérgicas y no-colinérgicas, las neuronas no-colinérgicas son GLUtéricas o GABAérgicas y se encuentran esparcidas entre las agrupaciones de neuronas colinérgicas que alcanzan del 40 al 50% (Lança, Sanelli y Corrigan, 2000).

El PPTg fue descrito por L. Jacobsohn en 1909 en el encefalo humano. Se encuentra en la parte ventrolateral del tegmento mesencefálico caudal, su extremo rostral alcanza al polo caudal de la SN y su extremo caudal se superpone al pedúnculo cerebral superior a nivel del núcleo parabranchial. Está limitado lateralmente por el lemnisco lateral, medialmente por la decusación del pedúnculo cerebelar superior, anterodorsalmente por el DpMe y ventralmente por la RF pontina (Paxinos y Butcher, 1985; Steckler, et al., 1994).

En la rata es una gran masa cónica con su vértice dirigido rostroventralmente hacia la SN y una base en relación con el núcleo parabranchial. Según la densidad de su distribución neuronal se le distinguen dos porciones: la porción compacta, es la de mayor densidad neuronal y fácilmente reconocible del núcleo, se encuentra en la parte dorsolateral del tercio caudal; la porción difusa, forma una dispersa colección de neuronas (Rye, et al., 1987).

#### 1.1.2.6.2.-Neuronas del PPTg

El PPTg está formado por una mezcla de neuronas colinérgicas y no-colinérgicas. Las neuronas colinérgicas se encuentran principalmente en la porción compacta, dispuestas en capas y su

número alcanza aproximadamente 1.700 por núcleo, aunque algunas se pueden encontrar en los núcleos adyacentes, como la SN, el DpMe y el núcleo parabranchial (Rugg et al., 1992).

Estudios ultraestructurales reconocen tres tipos de neuronas en el PPTg, las neuronas colinérgicas, grandes de cuerpo fusiforme y dos tipos de neuronas no-colinérgicas, pequeñas y medianas. Así mismo, mediante estudios electrofisiológicos se han distinguido también tres tipos de neuronas: las neuronas tipo II, corresponden a las neuronas colinérgicas y las neuronas tipo I y III a las neuronas no-colinérgicas (Rye, et. al.,1987; Kang y Kitai, 1990; Spann y Grofova, 1992).

#### 1.1.2.6.3.-Características electrofisiológicas de las neuronas del PPTg

Según la actividad basal espontánea se han distinguido dos tipos de neuronas en el PPTg: las neuronas tipo I se caracterizan por una forma de onda trifásica, de 3 a 4 ms de duración y su descarga es lenta (0,5 a 8 potenciales/s) con un patrón regular; las tipo II tiene una forma de onda bifásica, con una duración de 1,5 a 3 ms., son más rápidas que las anteriores (10 a 20 potenciales/s.) y descargan en períodos de ráfagas con disminución de la amplitud del potencial según avanza. Según las características de la membrana se distinguen tres tipos neuronales: las tipo I o LTS que presentan corrientes de  $Ca^{++}$  de bajo umbral; las tipo II que pueden ser de tipo A capaces de activar intensas corrientes A de  $K^+$  o las que además presentan características LTS (A+LTS); y las tipo III que no presentan corrientes de  $Ca^{++}$  ni A de  $K^+$ . Las neuronas tipo I y III no son colinérgicas y el 50% de las de tipo II son colinérgicas (Damas, 1995).

#### 1.1.2.7.-Núcleo mesencefálico profundo

##### 1.1.2.7.1.-Topografía

El término núcleo mesencefálico profundo (DpMe) fue introducido por L. Castaldi en 1923 para describir un núcleo del mesencéfalo de cobaya que se encuentra lateralmente al R y la sustancia gris periacueductal, ventral al SC, dorsal a la SN y medialmente al cuerpo geniculado medial (Veazey y Severin, 1980a).

En un estudio comparativo del mesencefalo de mamíferos G. C. Huber y cols. en 1943 describieron al DpMe como el principal componente de la sustancia gris tegmental lateral, siendo una estructura difusa, lo consideraron una extensión mesencefálica de la RF pontina ventrolateral. Posteriormente en 1954, J. Olszewiski y D. Baxter en su atlas citoarquitectónico del tronco del encéfalo humano introdujeron el término núcleo cuneiforme y subcuneiforme para este núcleo, el cual ha sido adoptado por algunos autores en la rata, aunque este núcleo es difuso y no ha sido bien descrito (Veazey y Severin, 1980a).

#### 1.1.2.7.2.-Neuronas del DpMe

La difusibilidad del DpMe ha hecho que no tenga una citoarquitectura diferenciable. Aunque tiene una mayor densidad neuronal que el PPTg, está compuesto principalmente por neuronas pequeñas y medianas de forma ovalada. Las neuronas grandes se encuentran en la porción central del núcleo (Rye, et. al.,1987).

### ***1.1.3.-Conexiones de los núcleos de los núcleos basales.***

Los circuitos de los BN están formados por las múltiples proyecciones que interconectan los núcleos formando circuitos intrínsecos de retroalimentación y unas pocas vías de salida, que le permite ejercer su influencia sobre estructuras dianas distantes (Parent, 1990).

Los BN están estrechamente relacionados con el córtex cerebral, el tálamo y en menor proporción con el tronco del encéfalo. El hecho que las dos proyecciones eferentes de los BN, las vías palidofugales y nigrofugales terminen en los núcleos motores del tálamo y la subsiguiente proyección de estos núcleos hacia el córtex frontal, señalan que las proyecciones eferentes de los BN, actúan mediante proyecciones ascendentes sobre el córtex motor precentral y por proyecciones descendentes sobre ciertos núcleos motores del tronco del encéfalo (De Long y Georgopoulos, 1981).

El estriado, es el principal componente de los BN, es un centro receptor donde convergen las proyecciones aferentes del córtex cerebral, tálamo y tronco del encéfalo y un centro integrador desde donde se originan las proyecciones eferentes que alcanzan hasta la médula espinal, a través de la SNR y la RF descendente, y el córtex cerebral a través del tálamo desde la SNR o el EP (Parent, 1986).

#### **1.1.3.1.- Proyecciones aferentes del estriado**

El estriado recibe información directa del córtex cerebral (motor y asociativo), del tálamo, de la SNC y en una menor proporción desde el GP, STh, núcleo dorsal del rafé y PPTg e indirectamente del cerebelo y la RF ascendente a través de los núcleos motores del tálamo (Parent, 1990).

#### 1.1.3.1.1.- Proyección corticoestriatal

La proyección corticoestriatal constituye la principal proyección aferente al estriado, aunque Cajal (1911) consideraba a las fibras corticoestriatales como colaterales de las proyecciones corticofugales hacia centros más caudales. Estudios mediante transporte axonal retrogrado de HRP en primates, demuestran que los axones corticoestriatales tanto homo como contralaterales, se originan de una población neuronal diferente a la de las otras fibras corticofugales: corticoespinal, corticobulbar, corticopontina, corticorubral y corticotalámicas (Carpenter, 1981; Alheid, Heimer y Switzer, 1990).

La proyección corticoestriatal se origina principalmente de las neuronas piramidales pequeñas de la mitad superior de la lámina V de todas las áreas corticales involucradas. Sin embargo, unas pocas neuronas piramidales grande presentan colaterales axónicas que terminan en el estriado. Tales colaterales han sido identificadas mediante inyecciones intracelulares de HRP y responden antidrómicamente tras la estimulación del tálamo o pedúnculo cerebral. También neuronas corticales marcadas han sido observadas tras la inyección de un trazador fluorescente en el tálamo y núcleo caudado. Pero, otros hallazgos sugieren que las fibras corticoestriadas se originan de las láminas corticales supra (I; II y III) e infragranulares (V y VI). En ratas, se ha demostrado que la organización compartamental esta relacionada con su origen laminar y secundariamente a las áreas citoarquitectónicas de origen. Cada área cortical parece inervar los estriosomas y la matriz, pero las neuronas corticoestriatales de las láminas infragranulares se proyectan principalmente a los estriosomas, mientras que aquellas de las láminas supragranulares terminan en la matriz (Parent, 1990).

Por otra parte, experimentos de doble trazado en gatos, demuestran que un 75% de las aferencias corticales al núcleo caudado

son homolaterales, un 25% son contralaterales y menos de un 1% son bilaterales (Parent, 1986).

La proyección corticoestriatal termina en las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas, ejerciendo una influencia excitadora mediante el GLU (Parent, 1986; Parent, 1990).

#### 1.1.3.1.2.- Proyección talámoestriatal

Los núcleos del tálamo dorsal en mamíferos pueden ser agrupados en dos sistemas funcionales distintos: los núcleos filogenéticamente más antiguos adyacentes al III ventrículo y situados medialmente a la lámina medular interna, llamados intralaminares; y otros filogenéticamente más recientes, más voluminosos y relacionados con el desarrollo del córtex cerebral. Se distinguen principalmente cinco núcleos intralaminares en primates: el centromediano (CM), el parafascicular (PF), el medial central, el lateral central y el paracentral; como los límites entre los núcleos CM y PF no son claros, ambos núcleos son conocidos como complejo centromediano-parafascicular (CM-PF) (Carpenter, 1981).

El proyección talámoestriatal, es la segunda más prominente aferencia al estriado; estudios con la HPR han ayudado a establecer el exacto origen de esta proyección en varios mamíferos, demostrando que es una proyección topográficamente organizada con una correspondencia rostrocaudal y dorsoventral entre los núcleos intralaminares y sus terminaciones en el estriado. Aunque, existen diferencias en cuanto a su organización en primates y no-primates, son probablemente debidas en parte a las diferentes proporciones putamen/caudado en las distintas especies (Parent, 1986).

Estudios electrofisiológicos y de HRP sugieren que las fibras talámoestriatal envían colaterales al córtex cerebral. Estas fibras colaterales han sido confirmadas mediante estudios de doble trazado y respuesta antidrómica. En gatos, por ejemplo: las inyecciones en el área motora primaria y núcleo caudado producen abundantes neuronas retrogradamente marcadas en la mayoría de los núcleos intralaminares, pero no en el CM donde unas pocas neuronas están marcadas. Sin embargo, menos colaterales se encuentran si otras áreas corticales y el caudado son inyectadas. También se han encontrado neuronas que proyectan al estriado y al córtex cerebral en los núcleos VA, VL y mediodorsal del tálamo. En gatos, algunas neuronas de los núcleos intralaminares que proyectan al estriado y al córtex también envían colaterales adicionales al núcleo reticular del tálamo. Estudios de respuesta antidrómica sugieren que las neuronas de los núcleos intralaminares central lateral y paracentral del gato forman dos poblaciones; una que proyecta al córtex y otra al estriado. Estas poblaciones tendrían diferente velocidad de conducción, mostrando que ambos núcleos son una estación de relevo monosináptica que conducen impulsos desde la RF mesencefálica a varias áreas corticales y al caudado (Parent, 1986).

Como la proyección corticoestriatal, las fibras talamocorticales parecen terminar mayoritariamente en las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas, donde ejercen una influencia excitadora. Sólo una pequeña proporción de fibras aferentes talámicas hace sinapsis sobre las dendritas y el cuerpo de las neuronas estriatales (Parent, 1986).

#### 1.1.3.1.3.- Proyecciones del tronco del encéfalo

En mamíferos, los principales grupos neuronales indolamínicos del mesencefalo son tres, los núcleos dorsal, mediano y lateral del rafé.

El núcleo dorsal del rafé se encuentra en la sustancia gris central, ventral al acueducto del mesencéfalo a nivel del núcleo troclear. La porción ventral del núcleo se encuentra junto al fascículo longitudinal medial y caudalmente se une al núcleo mediano del rafé, se proyecta hacia el estriado, cuerpo geniculado lateral, región preóptica, área septal y Acb. El núcleo mediano del rafé es de gran tamaño y se encuentra a nivel del istmo, extendiéndose rostralmente en el mesencefalo caudal. Proyecta al giro del cíngulo, córtex del cíngulo, áreas neocorticales, área entorrinal y formación hipocampal (Carpenter, 1981).

La existencia de una proyección 5-HTérgica desde los núcleos del rafé mesencefálicos hasta el estriado ha sido establecida mediante varias técnicas. Se origina principalmente desde el núcleo dorsal del rafé con una mínima contribución del núcleo mediano del rafé, originando dos distintas pero parcialmente superpuestas proyecciones. En ratas y gatos esta proyección es principalmente homolateral, terminando predominantemente en la región ventrocaudal del putamen (Parent, 1986).

Otras dos fuente de aferencias estriatales son: el *locus coeruleus* y la región peribranquial, (PPTg y la RF pontina). La proyección desde el PPTg se ha establecido mediante estudios autoradiográficos y con HRP; por el contrario, la proyección estriatal desde el *locus coeruleus* no esta bien demostrada (Parent, 1986).

#### 1.1.3.2.- Proyecciones eferentes del estriado

El estriado de mamíferos como principal centro receptor de los BN recibe aferencias de diferentes fuentes, pero las fibras estriofugales terminan en la SNR o en el EP, bien directamente o indirectamente a través del GP y del STh (Parent, 1986).

#### 1.1.3.2.1.- Proyecciones estriopalidal y estrionigral

Estudios con doble trazadores retrogradados fluorescentes en el mono ardilla, han revelado que la inervación estriatal del GPe, GPi y SNR no es mediante colaterales de una única vía estriofugal y que además estas se originan de grupos neuronales diferentes. Similares hallazgos se han encontrado en gatos, pero en ratas más del 40% de las neuronas estriatales de proyección envían proyecciones colaterales al GP y la SNR (Parent, 1986; Parent, 1990).

Además, estudios con HRP demuestran que las fibras caudofugales y putaminofugales tienen trayectorias diferentes, las fibras del núcleo caudado penetran en la cápsula interna a nivel de la comisura anterior se dirigen al tercio dorsal del pálido, luego penetran en el pedúnculo cerebral para terminar masivamente en 2/3 rostromediales de la SNR. Por el contrario, las fibras putaminofugales invaden masivamente los 2/3 ventrales del pálido y un reducido número continua por los pedúnculos cerebrales para terminar en el tercio caudolateral de la SNR (Parent, 1986).

Estudios con trazadores anterogradados y retrogradados en el mono ardilla, sugieren que las proyecciones estriopalidal y estrionigral pertenecen a dos sistemas diferentes; las fibras estriopalidales se originan de una región del estriado que recibe aferencias del córtex sensitivomotriz y estaría relacionada con aspectos sensitivomotrices de los BN, mientras que las fibras estrionigrales se originan de una región que recibe proyecciones del córtex asociativo y estaría relacionada con aspectos integrativos de los BN. Esta idea es apoyada estudios electrofisiológicos que demuestran que existe una representación somatotópica sensitivomotriz en los 2/3 ventrales del pálido, donde numerosas neuronas responden a los movimientos de los miembros,

mientras que neuronas de la parte caudolateral de la SNR se activan durante los movimientos orofaciales, el resto de las neuronas nigrales (incluidas las de la SNC) muestran una modulación no fásica en relación con los movimientos corporales o de los miembros. El hecho que las terminaciones caudofugales y putaminofugales ocupen distintas áreas palidales podría indicar que la información sensitivomotriz y asociativa son procesadas independientemente en el GP (Parent, 1986).

Estudios con doble trazador de HRP combinados con un trazador fluorescente demuestran que en gatos y primates, las proyecciones estriofugales se originan de grupos neuronales separados, sin embargo, los mismos estudios en el mono tití revelan que los grupos neuronales estriopalidales y estrionigrales están muy mezclados, más que en el mono ardilla (Parent, 1986).

Estudios de doble trazado en ratas combinados con un trazador fluorescente demuestran el alto grado de colaterización de las fibras estriofugales, la mayoría (60%) de las neuronas estriatales de proyección proyectan al GP (20%) y SNR (40%) y el resto (40%) lo hace a ambas estructuras (Parent, 1986).

#### 1.1.1.3.2.- Proyección estriocortical

En contraste con las prominentes proyecciones estriopalidal y estrionigral, existen otras dos proyecciones más modestas que terminan en el córtex cerebral y en el STh (Parent, 1986).

La presencia de neuronas retrogradamente marcadas en el estriado tras las inyecciones de HRP en diferentes áreas corticales del gato, ha sido considerado como evidencia de la existencia del proyección estriocortical, tras numerosos intentos para demostrar su existencia propuesta por Cajal en 1895. El hecho que se necesitaran inyectar

grandes cantidades de HRP para marcar las neuronas estriatales, sería un indicador de que las fibras estriocorticales son mayoritariamente pequeñas colaterales axónicas. Estudios con HRP y AChE demuestran que se origina de las grandes neuronas estriatales ricas en AChE del caudado y del putamen, asumiéndose que esta proyección es una vía colinérgica (Parent,1986).

#### 1.1.3.2.3.- Proyección estriosubtalámica

Su existencia fue demostrada mediante estudios de trazadores anterogrados y retrogrados en gatos; al parecer sería recíproca. Pero, se desconoce el origen celular y su existencia en otros mamíferos (Parent,1986).

#### 1.1.3.3.- Proyecciones aferentes del pálido

A diferencia del estriado el GP no recibe proyecciones desde el córtex cerebral. Las principales aferencias al pálido provienen desde el estriado (ver página 25) y el STh (ver página 34), otras proyecciones menos importantes provienen del tronco del encéfalo: SNC, núcleo dorsal del rafé y PPTg. Las largas dendritas de las neuronas palidales están completamente cubiertas de sinapsis, la mayoría de ellas (80-90%) proviene del estriado, mientras que sólo un 5-10% son terminaciones nerviosas del STh, el resto provienen del núcleo PF del tálamo y de otros orígenes (Parent, 1990; Mena y García, 1990; Bergman, et al., 1998).

##### 1.1.3.3.1.- Proyección estriopalidal

La proyección estriopalidal es la principal aferencia al pálido, esta topográficamente organizada. El principal neurotransmisor de las

neuronas palidales es el GABA y las fibras estriopalidales se pueden distinguir histoquímicamente, las que alcanzan al GPe/GP contienen ENK y las del GPi/EP, son ricas en SP. El GP presenta la más altas concentraciones de ENK en el CNS con una densa red de fibras y terminaciones nerviosas. Diversos estudios experimentales con neurotóxicos, han demostrado que la mayoría, sino todas, estas fibras tienen origen estriatal (Parent, 1986).

#### 1.1.3.3.2.- Otras proyecciones del tronco del encéfalo

El GP también recibe proyecciones desde algunos núcleos del tronco del encéfalo como la SNC, el núcleo dorsal del rafé y el PPTg. La técnica de histofluorecencia en ratas ha revelado que el GP recibe colaterales axónicas de las neuronas DAérgicas nigroestriatales, pero esta proyección es menos importante que la del estriado. Y colaterales axónicas de la proyección ascendente del núcleo dorsal del rafé. (Parent, 1986).

Estudios con trazadores anterogrados y retrogrados revelan que recibe aferencias desde el PPTg y esta proyección sería recíproca, la cual está particularmente bien desarrollada en primates. La estimulación eléctrica del PPTg en gatos, produce la activación antidrómica y ortodrómica de las neuronas palidales, hay evidencias que la excitación ortodrómica podría ser producida monosinápticamente por axones del PPTg, mientras que la activación antidrómica de los axones del EP podría producir IPSPs en neuronas EP por axones colaterales recurrentes. Se ha postulado que la acción excitadora del PPTg sobre el GP podría parcialmente ser la responsable de la alta frecuencia de descarga característica de las neuronas palidales en animales despiertos. Por otra parte, los estudios inmunohistoquímicos han caracterizado al PPTg como un núcleo predominantemente colinérgico y

se puede asumir que su influencia sobre el GP sería mediada por la ACh, aunque también contiene neuropéptidos (Parent, 1986).

#### 1.1.3.4.- Proyecciones eferentes del pálido

El GPe/GP tiene menos proyecciones eferentes que el GPi/EP y su proyección más importante es hacia el STh, pero también envía proyecciones hacia el estriado y la SNR. Por el contrario, el GPi/EP proyecta masivamente a los núcleos talámicos: ventral y CM, la habénula lateral, y el PPTg. Estudios con PHAL, sugieren que ambos segmentos tienen diferentes modos de terminación en cada una de las estructuras dianas y que también estarían recíprocamente interconectados. Además, estudios con trazadores retrogrados de las eferencias del GPi de primates demuestran que tienen una organización muy diferente a las eferencias del EP de roedores (Parent, 1986; Parent, 1990).

##### 1.1.3.4.1.- Proyección palidosubtalámica

La proyección palidosubtalámica esta topográficamente organizada. En monos, las neuronas de la parte rostral del GPe proyectan a los 2/3 mediales de la porción rostral del STh y la parte central del tercio medio, mientras que las neuronas de la parte central del GPe proyectan al 1/3 lateral del STh en toda su extensión. En gatos, la porción caudal del GP proyecta hacia los 2/3 laterales del STh (Parent, 1986).

##### 1.1.3.4.2.- Proyección palidoestriatal/palidonigral

Experimentos con doble trazadores en ratas, sugieren que la misma neurona del EP proyecta hacia el estriado y la SNR, mediante

axones colaterales. En monos se encuentran en el GPe neuronas marcadas retrogradamente tras la inyección de un trazador fluorescente en el estriado o la SNR; sin embargo, la proyección palidonigral parece originarse exclusivamente de las neuronas del GPe, pero algunas neuronas del GPi parecen enviar fibras a través de la proyección palidostriatal (Parent, 1986).

#### 1.1.3.4.3.- Proyección palidotálámica

Mediante estudios con trazadores anterogrados y retrogrados en ratas han revelado la existencia de una proyección bilateral desde el GP hasta el núcleo paraventricular del tálamo (Parent, 1986).

#### 1.1.3.5.-Proyecciones eferentes del núcleo entopeduncular

El GPi/EP forma un importante canal de salida de los BN que envía proyecciones eferentes a través de un prominente sistema de fibras llamado asa lenticular que las distribuye hacia la habénula lateral (LHb), el tálamo y el tegmento mesencefálico (PPTg) (Carpenter, 1981). El tercio rostral del EP en la rata se proyecta hacia la LHb, la cual a su vez se proyecta sobre el núcleo dorsal del rafe; mientras que los 2/3 caudales inervan el núcleo ventrolateral (VL) del tálamo y el PPTg (Rajakumar, Elisevich y Flumerfelt, 1993). La mayoría de las neuronas del EP en ratas son inmunoreactivas al GAD, asumiéndose que el GABA es el neurotransmisor de las proyecciones palidotálámicas, palidohabenular y palidotegmental, aunque sólo hay evidencias para la proyección palidohabenular (Parent, 1986).

##### 1.1.3.5.1.- Proyección entopedunculotalámica

La proyección entopedunculotalámica es una de las principales proyecciones de salida de los BN termina en los núcleos VL y VA

homolaterales del tálamo, que tienen conexiones directas con los córtex premotor y suplementario. Se origina de neuronas de proyección entopedunculares de los 2/3 caudales, que reciben aferencias desde la matriz estriatal, las que a su vez reciben entradas del córtex sensitivo, motor y asociativo (Rajakumar, Elisevich y Flumerfelt, 1993). En monos la proyección palidotalámica esta topográficamente organizada, la parte rostródorsal del GPi, que recibe aferencias desde el núcleo caudado proyecta hacia el núcleo VA (porción principal) del tálamo y la porción caudoventral que recibe entradas desde el putamen proyecta al núcleo VL (porción oral) (Carpenter, 1981; Parent, 1986).

#### 1.1.3.5.2.- Proyección entopedunculohabenular

Esta proyección termina en la mitad lateral de la LHb, esta muy desarrollada en ratas donde casi todas las neuronas de los 2/3 rostrales del EP se proyectan hacia la LHb. En gatos, las fibras del EP recorren por lo menos cinco rutas diferentes hasta la LHb. En monos, esta proyección es menos prominente que en ratas y gatos, se origina de una pequeña población de neuronas periféricas del GPi; de hecho, las neuronas del área hipotalámica lateral adyacentes al GPi contribuyen más sustancialmente a la inervación de la LHb (Carpenter, 1981; Parent, 1986).

#### 1.1.3.5.3.- Proyección palidotegmental

La proyección palidotegmental es más notable en primates que en ratas y gatos, las fibras palidotegmentales del mono se desprenden del asa lenticular en el campo H de Forel, pasan ventrolateralmente al R y terminan en la porción compacta del PPTg (Carpenter, 1981; Parent, 1986).

Una estimación cuantitativa de las proyecciones entopedunculares se han efectuado con métodos electrofisiológicos de respuesta antidrómica del EP en gatos; el 68% de las neuronas

entopedunculares respondían antidrómicamente a la estimulación de los núcleos VL o CM y un 50% por estimulación del PPTg, en 33% de los casos la misma neurona respondía antidrómicamente a la estimulación de los tres sitios. Sólo un 25% respondía a la estimulación del LHb solo o en combinación con otros sitios, concluyéndose que las neuronas entopedunculares proyectan principalmente al PPTg y las neuronas que proyectan a los núcleos talámicos presentan colaterales (Parent, 1986).

#### 1.1.3.6.- Proyecciones aferentes del núcleo subtalámico

El STh, parece ser una estructura clave en los circuitos de los BN, como el estriado, también recibe una proyección directa desde el córtex cerebral y se proyecta sobre el GPi/EP y la SNR, quedando estratégicamente interpuesto entre el GP y las dos estaciones de salida de los BN (Heimer, Alheid y Zaborszky, 1985; Parent y Hazrati, 1993). También recibe proyecciones del complejo CM-PF, posiblemente mediante colaterales axónicas de la proyección talamoestriatal, la SNC, *locus coeruleus* y núcleo dorsal del raquí. Pero además, tiene conexiones recíprocas con el PPTg y posiblemente el estriado y córtex cerebral (Parent 1986).

Existen marcadas diferencias en la organización del STh entre primates y roedores, cuyas neuronas se proyectan abundantemente al GP y SNR por colaterales axónicas, lo que podría explicar las dramáticas alteraciones en la conducta motora de primates tras la lesión del STh y las escasas consecuencias en roedores. Sin embargo, el STh de roedores y primates parece estar en posición de modular la actividad de ambas estructuras de salida de los BN, el GPi/EP y la SNR, ejerciendo una actividad excitadora a través del GLU (Parent, 1990).

##### 1.1.3.6.1.- Proyección corticosubtalámica

Constituye la segunda proyección desde el córtex a los BN, se origina de las áreas motoras y premotoras del córtex frontal. En primates, la proyección desde el área 4 termina en la región dorsal y lateral del STh; más específicamente, las proyecciones de la cara son dorsolaterales mientras que el tronco y miembros son más ventromediales. Las áreas 6, 8 y 9 ocupan una posición más ventromedial y menos superpuestas que las del área 4. Experimentos en ratas sugieren la existencia de una proyección desde el córtex somatosensitivo que termina en la región dorsolateral, sin embargo, en monos no se ha demostrado tal proyección (Alheid, Heimer y Switzer, 1990). También, hay evidencias de que esta proyección sería recíproca en ratas (Parent 1986).

#### 1.1.3.6.2.- Proyección tegmentosubtalámica

El principal componente de la proyección tegmentosubtalámica en ratas, proviene de las neuronas no-colinérgicas de la porción difusa del PPTg pero también, y en menor proporción, de las neuronas colinérgica de la porción compacta y del LDTg (Bevan y Bolam, 1995).

#### 1.1.3.7.-Proyecciones eferentes del núcleo subtalámico

El STh que recibe importantes proyecciones desde el córtex frontal y GP, proyecta principalmente a GP/GPe, GPi/EP, pero especialmente, tanto en monos como en ratas hacia el GPi/EP y la SNR. Otras proyecciones menos importante son para el PPTg y para el estriado (esta última ha sido descrita en primates y gatos, pero no en ratas). También existen proyecciones más modestas hacia los núcleos VA y VL del tálamo, SNC, sustancia gris central, núcleo dorsal del rafé y RF mesencefálica y pontina (Parent,1986; Alheid, Heimer y Switzer, 1990).

Las proyecciones hacia el GP, EP y SNR en la rata se originan de las mismas poblaciones neuronales, mediante proyecciones ascendentes y descendentes. Experimentos con dobles trazadores fluorescentes e inyecciones intracelulares de HRP revelan que la mayoría de las neuronas subtalámicas de ratas proyectan al GP y SNR mediante colaterales axónicas, el axón se bifurca en un axón colateral ascendente que termina en el GP y un axón colateral descendente que termina en SNR. Estudios electrofisiológicos en roedores confirman la bifurcación axónica de las neuronas subtalámicas pero diferentes respuestas se han encontrado en cada colateral, la estimulación eléctrica del STh produce inhibiciones de corta latencia en la actividad espontánea del pálido y excitaciones de corta latencia en la SNR, la participación de diferentes grupos de interneuronas ha sido planteado como posible explicación (Parent, 1986; Féger, Hassani y Mouroux, 1997).

Estudios de doble trazado en el mono ardilla, sugieren que ambas proyecciones se originan de diferentes poblaciones neuronales en primates, siendo las neuronas con colaterales axónicas las que se encuentran en menor proporción (Parent, 1986).

#### 1.1.3.7.1.- Proyección subtalámopalidal

La proyección subtalámopalidal ha sido demostrada en varias especies mediante técnicas de trazadores anterogrados y retrogrados; aunque hay diferencias importantes en las conexiones del STh entre roedores y primates, ambos presentan conexiones recíprocas con el complejo palidal, el GPe/GP se proyecta masivamente sobre el STh y este a su vez, inerva tanto al GPe/GP como al GPi/EP, cuya organización topográfica ha sido ampliamente estudiada en monos (Smith, Wichmann y DeLong, 1994).

Estudios autorradiográficos han revelado que la proyección subtalámopalidal esta topográficamente organizada y se proyecta sobre ambos segmentos palidales, siendo la proyección hacia el GPi levemente mayor. Las fibras subtalámopalidales se originarían de diferentes poblaciones neuronales subtalámicas. Estudios con HRP revelaron que las neuronas mediales del tercio caudal del STh proyectan masivamente al GPi, mientras que las que se encuentran centralmente en los 2/3 rostrales inervan principalmente el GPe y las del tercio lateral envían sólo algunas fibras al pálido (Parent, 1986).

La proyección subtalámopalidal constituye, en importancia, la segunda aferencia al pálido y su papel en la organización funcional de los BN ha sido controvertida. Sin embargo, recientes hallazgos tanto inmunohistoquímicos, electrofisiológicos como farmacológicos revelan que el STh ejerce una fuerte excitación (posiblemente GLUtérgica) sobre las neuronas palidales y últimamente se ha sugerido que la hiperactividad de esta proyección en la PD podría ser la principal causa de las alteraciones motoras, tras la comprobación que la lesión unilateral del STh en el mono parkinsoniano reduce las principales alteraciones en el miembro contralateral (Smith, Wichmann y DeLong, 1994).

#### 1.1.3.7.2.- Otras proyecciones subtalámicas

Experimentos con trazadores retrogrados marcan neuronas del STh tras inyecciones en las proximidades del PPTg, indicando la relación con las neuronas no-colinérgicas de la porción difusa del PPTg. Los experimentos con trazadores anterogrados son complicados por el pequeño tamaño del núcleo y las proximidades del GP, SN y zona incerta que también proyectan a la RF del tronco del encéfalo (Alheid, Heimer y Switzer, 1990).

#### 1.1.3.8.- Proyecciones aferentes de la sustancia negra compacta

Mediante técnicas de transporte axonal anterogrado y retrogrado, se ha establecido que la SNC y SNR comparten parcialmente sus conexiones aferentes aunque tienen diferentes conexiones eferentes. Las neuronas de la SNC, proyectan principalmente al estriado. En cambio las neuronas de la SNR proyectan al tálamo, SC y tegmento mesencefálico. La principal aferencia proviene en ambos casos del estriado (Grofova, Deniau y Kitai, 1982).

#### 1.1.3.8.1.- Proyección palidonigral

La proyección palidonigral es relativamente menor que la estrionigral, se origina del GPe en monos, mientras que el GP y el EP contribuyen en ratas y gatos. En ratas esta formada por axones colaterales de las neuronas palidoestriatales que terminan más en las neuronas DAérgicas de la SNC que en la SNR. Hay evidencias que indican que las fibras palidonigrales emplean GABA y SP (Parent, 1986).

#### 1.1.3.8.2.- Proyección corticonigral

La existencia de la proyección corticonigral ha sido muy discutida. Los métodos de tinción de plata han revelado pocas fibras e indicaban que muchas fibras corticofugales sólo atravesaban la SN hacia otras terminaciones más caudales. Estudios con microscopía electrónica en gatos la descartaban. Pero inyecciones de HRP confirmados por autorradiografía indican que se originaría del córtex prefrontal (áreas 6 y 9) terminando en parches en la SNC. Experimentos de lesiones sugieren que el GLU sería el neurotransmisor (Carpenter, 1981; Parent, 1986).

#### 1.1.3.9.- Proyecciones eferentes de la sustancia negra compacta

##### 1.1.3.9.1.- Proyección nigroestriatal

La proyección nigroestriatal pertenece a la vía mesoestriatal (el mayor sistema DAérgico del encefálo), formada por una parte dorsal que corresponde a la proyección nigroestriatal y otra ventral constituida por proyecciones del VTA hacia el estriado ventral y córtex frontal. Pero, ambas proyecciones no están completamente separadas, existiendo un cierto grado de superposición en sus terminaciones. Estudios autorradiográficos y de HRP han revelado que neuronas de la SNR y otros grupos paranigrales, especialmente del VTA y área retrorubral también contribuyen a la proyección nigroestriatal (Parent, 1986).

Esta proyección es principalmente homolateral, sólo un 5% de las neuronas tienen proyección contralateral y muy pocas presentan proyección bilateral. Por otra parte, las neuronas DAérgicas de la SNC también proyectan en una menor proporción hacia el GP y el STh homolateral. Así mismo, estudios combinados de trazadores retrogradados e histofluorescencia de catecolaminas han revelado que la presencia de neuronas nigroestriatales no-DAérgicas representarían menos de un 10% de la proyección (Parent, 1986).

Se origina de neuronas DAérgicas y no-DAérgicas de la porción ventral de la SNC y ventrolateral de los grupos neuronales paranigrales de la VTA, SNL y SNR. Las neuronas DAérgicas homolaterales presentan dos tipos de fibras; unas emiten colaterales locales hacia la SNC, SNR y área retrorubral y las otras no. Las fibras nigroestriatales se dirigen primero medialmente para unirse a las fibras más mediales de la SNC y rostralmente del VTA, luego cursan rostralmente con la radiación CAérgica tegmental, atraviesan el campo de Forel H<sub>2</sub> y ascienden por el fascículo prosencefálico medial y llegan al GP donde pueden emitir colaterales para este núcleo y finalmente pasan a través del borde ventromedial de la cápsula interna para llegar al CPu por varias vías (Fallon y Loughlin, 1985). La DA liberada por las terminaciones

nerviosas de las neuronas de la SNC modulan la actividad de las neuronas estriatales y, a través de ellas, de todos los circuitos de los BN (Bergman, et al., 1998).

#### 1.1.3.9.2.- Proyección nigrocortical

Neuronas de la SNC y del VTA proyectan al córtex prefrontal. La proyección del VTA es más prominente, pero no se colateriza tan extensamente en el córtex u otras estructuras subcorticales como la SNC. Esta última está muy colaterizada e inerva diferentes regiones del córtex (prefrontal, del cíngulo, suprarrenal y entorrinal) así como otras subcorticales. Sin embargo, no se ha establecido aún si estas neuronas que se encuentran en el tercio medial de la SNC emplean DA como neurotransmisor (Parent, 1986).

#### 1.1.3.9.3.- Otras proyecciones de la SNC

Existe evidencia de que la SNC envía proyecciones descendentes hacia algunos núcleos más caudales del tronco del encéfalo, que incluyen el *locus coeruleus*, la región parabranchial, el núcleo dorsal del rafe e incluso el cerebelo y la médula espinal. Muchas de estas proyecciones se originan del VTA, pero la SNC y el área retrorubral también contribuyen (Parent, 1986).

La comprobación mediante HRP y microiontoforésis de la existencia de una proyección DAérgica nigrosubtalámica desde la SNC en roedores, hacen suponer que el sistema DAérgico nigroestriatal podría también jugar un papel regulador en el STh (Parent, 1986).

#### 1.1.3.10.- Proyecciones aferentes de la sustancia negra reticulada

Las proyecciones aferentes de la SNR provienen del estriado, el GP (ver página 30), el EP, el STh, el núcleo dorsal del raqué y Acb (Grofova, Deniau y Kitai, 1982).

#### 1.1.3.10.1.- Proyección estrionigral

La proyección estrionigral es la principal proyección aferente a la SNR. Estudios de doble trazado en primates han establecido que las fibras caudofugales y putaminofugales forman sistemas diferentes, distinguibles por su sitio de origen, terminación y coneurotransmisor. Las fibras caudofugales se proyectan intensamente sobre los 2/3 rostromediales de la SNR, mientras que las fibras putaminofugales terminan en el 1/3 caudolateral, proyectándose mas intensamente sobre el pálido que sobre la SNR (Parent, 1986).

#### 1.1.3.10.2.- Proyección subtalámonigral

Virtualmente todas las neuronas de la STh se proyectan hacia el GP y la SNR; sin embargo, en monos las proyecciones subtalámonigral y subtalámopalidal se originan de poblaciones neuronales diferentes. Estudios electrofisiológicos indican que las fibras subtalámonigrales ejercen una acción excitadora en la SNR y son de naturaleza GLUtérgica (Parent, 1986).

#### 1.1.3.10.3.- Proyección del tronco del encéfalo

En ratas, la inervación del núcleo dorsal del raqué proviene de fibras colaterales de la proyección hacia el estriado, quedando en posición de modular la actividad del estriado y la SNR (Parent, 1986).

#### 1.1.3.11.- Proyecciones eferentes de la sustancia negra reticulada

La SNR representa una de las principales estructuras de salida de los BN y presenta tres divergentes proyecciones nigrofugales: la proyección nigrotalámica, la proyección nigrocolicular y la proyección nigrotegmental (Parent, 1986).

#### 1.1.3.11.1.- Proyección nigrotalámica

La proyección nigrotalámica, es la más abundante y se origina de neuronas de toda la SNR. La mayoría de los axones de estas neuronas terminan en el núcleo ventromedial del tálamo, pero también proyectan hacia los núcleos mediodorsal e intralaminar, medial central, parafascicular y lateraldorsal. Envía colaterales hacia la SNR, SNC y RF; es GABAérgica inhibitoria (Fallon y Loughlin, 1985; Deniau y Chevalier, 1992).

La proyección nigrotalámica hacia el núcleo ventromedial del tálamo constituye el principal sistema eferente de los núcleos basales a través del cual las señales del estriado alcanzan hasta el polo frontal del neocórtex, a través de la proyección VM-talámocortical, proporcionando una amplia inervación a las áreas corticales oculomotoras y orofaríngeas. El sistema estrionigrotalámico está compuesto por dos sucesivas sinapsis GABAérgicas inhibitorias, estrionigral y nigrotalámica (Deniau y Chevalier, 1992).

#### 1.1.3.11.2.- Proyección nigrocolicular

La proyección nigrocolicular, se origina de neuronas de la mitad rostral y región mediolateral de la SNR, sus axones terminan principalmente, en las capas intermedia blanca y gris, como también aunque en menor proporción en la capa colicular profunda, del SC homolateral y contralateral. Esta proyección tiene una notable distribución topográfica al igual que la anterior, sus axones son

delgados, no mielinizados, también son GABAérgicos inhibidores y además de colaterales hacia el colículo contralateral, envía fibras colaterales al tálamo homolateral (Fallon y Loughlin, 1985; Deniau y Chevalier, 1992).

Las neuronas nigrocolículares, constituyen otra de las principales estación de relevo de las proyecciones eferentes del estriado, el sistema estrionigrocolícular, junto con las nigrotalámicas. Las neuronas GABAérgicas estrionigrales ejercen una potente influencia inhibitoria sobre la SNR y especialmente sobre las neuronas nigrocolículares, las que a su vez son GABAérgicas e inhibitorias. Las neuronas nigrocolículares presentan un nivel elevado y regular de descarga (30-100 potenciales/s) lo que hace suponer que ejercen una acción inhibitoria tónica sobre las neuronas del colículo (Deniau y Chevalier, 1992).

#### 1.1.3.11.3.-Proyección nigrotegmental

La proyección nigrotegmental, se origina de neuronas que se encuentran principalmente en los 2/3 caudales de la SNR y sus axones inervan la RF mesencéfala rostral y el área peribránquial que incluye los núcleos: PPTg, sustancia gris dorsolateral, DpMe, núcleo parabránquial, *locus coeruleus* y núcleos dorsal y mediano del rafé (Fallon y Loughlin, 1985; Deniau y Chevalier, 1992).

No se han descrito proyecciones recíprocas desde el tálamo y SC hacia la SN (Tepper, Martin y Anderson, 1995). Pero estudios de registros intracelulares y de trazadores neuronales, sugieren la presencia de una proyección pedunculonigral, colinérgica y no-colinérgica (GLUtérgica) en ratas, desde la porción difusa del PPTg hasta la SNC (Takakusaki et al., 1996).

#### 1.1.3.12.- Proyecciones aferentes al núcleo pedunculopontino tegmental

Las neuronas colinérgicas y no-colinérgicas del PPTg pueden ser comparadas con las DAérgicas y no-DAérgicas de la SN, en el sentido de que estas últimas tienen diferente morfología, conexiones y funciones; pero sin embargo, están mutuamente interconectadas y además, son interdependientes (Inglis, et al., 1994).

El PPTg es también funcionalmente divisible por el análisis de sus conexiones. Las neuronas colinérgicas forman parte de la RF y tienen extensas conexiones ascendentes y descendentes, las conexiones ascendentes influyen sobre la actividad neuronal del córtex y los BN. Las proyecciones colinérgicas descendentes inervan estructuras del puente y médula oblongada encargadas del sueño y la regulación del tono muscular. Las neuronas no-colinérgicas proyectan a los núcleos del puente, médula oblongada y médula espinal, reciben entradas de estructuras de los BN asociadas con el sistema límbico: SNR, STh y pálidos dorsal y ventral. Se supone que actúa como una interfase entre las estructuras límbicas de los BN y el sistema motor caudal, transportando la información motora desde el Acb hasta la médula oblongada y médula espinal (Inglis, et al., 1994).

Las proyecciones aferentes del PPTg se originan de los núcleos de los BN, sistema límbico y la RF. Las proyecciones de los BN provienen de la SNR (ver página 41), STh y GPi/EP (ver página 31) a los cuales también les envía fibras eferentes, estableciendo conexiones recíprocas; las proyecciones límbicas provienen del pálido ventral, hipotálamo y VTA; las proyecciones desde la RF se originan en los núcleos del rafe. También se han encontrado proyecciones desde las áreas 4 y 6 del córtex motor y núcleos intracerebelares (Steckler, et al., 1994; Scarnati y Florio, 1997).

#### 1.1.3.13.- Proyecciones eferentes del núcleo pedunculopontino tegmental

Las proyecciones eferentes del PPTg inervan los núcleos homolaterales de los BN, especialmente la SNC y el STh (ver página 33), aunque también alcanzan hasta el estriado, GPe/GP (ver página 28), GPi/EP, el tálamo, *tectum* y la RF del tronco del encéfalo. En algunos casos una simple neurona puede bifurcar o trifurcar su axón proyectándose a 2 o 3 áreas diferentes (Scarnati y Florio, 1997; Takakusaki, Shiroyama y Kitui, 1997).

Las proyecciones eferentes del PPTg pueden subdividirse en ascendentes y descendentes, aunque algunas neuronas sólo envían proyecciones ascendentes o descendentes, otras mediante colateralizaciones axonales envían proyecciones en ambas direcciones (Steckler, et al., 1994).

Las proyecciones ascendentes alcanzan hasta el córtex frontal, los núcleos talámicos (anterior, reticular, mediodorsal, centromediano, centrolateral, posterior, geniculado lateral y habénula), el estriado, el hipotálamo lateral, el GPe/GP, el GPi/EP, el cuerpo amigdalino, el VTA, los núcleos septales (septo lateral y dorsal), la SNC y los núcleos tectales (pretectal y SC) (Scarnati y Florio, 1997).

Las proyecciones descendentes forman parte de la RF medial e inervan núcleos pontinos, vestibulares e intracerebelares, las áreas ventrolateral rostral, relacionada con la regulación sanguínea, y medioventral identificada como de inducción motora en la médula oblongada. También las fibras descendentes alcanzan directamente hasta la médula espinal. Otras forman la rama ventromedial del tracto de Probst, llegando hasta los núcleos reticulares pontinos orales y caudales, la porción ventromedial del núcleo reticular gigantocelular; estableciendo una vía potencial para la influencia sobre los mecanismos

motores de la médula espinal y las funciones autónomas y motoras de los nervios craneales (Steckler, et al., 1994; Scarnati y Florio, 1997).

#### 1.1.3.14.- Proyecciones aferentes al núcleo mesencefálico profundo

Las proyecciones aferentes y eferentes del DpMe tiene una organización mediolateral y aunque esta división se basa en criterios arbitrarios y no citoarquitectónicos, es concordante con la disposición de la RF del puente y médula oblongada, cuya parte medial presenta largas fibras ascendentes y descendentes y la parte lateral contiene pequeñas neuronas con cortos axones (Veazey y Severin, 1980a; Veazey y Severin, 1982).

La mayoría de las aferencias terminan tanto en la parte medial como en la parte lateral del DpMe, excepto, algunas que terminan sólo en la parte lateral. Pero la parte medial, envía y recibe proyecciones de los núcleos más caudales del tronco del encéfalo (Veazey y Severin, 1980a; Veazey y Severin, 1982).

##### 1.1.3.14.1.- Proyección cortico-DpMe

Usando las técnicas de trazadores autoradiográficos anterogrados y retrogrados de prolina y/o leucina tritiada combinada con la HRP, se ha demostrado que el núcleo DpMe de la RF mesencefálica de roedores recibe proyecciones homolaterales del córtex sensitivomotriz, EP, zona incerta, SC y SN, proyecciones bilaterales del complejo sensitivo trigeminal y RF medular. También recibe proyecciones contralaterales desde el DpMe y núcleo dentado del cerebelo (Veazey y Severin, 1982).

La proyección cortical hacia el DpMe se origina de las neuronas piramidales de la capa V de las áreas 1, 2, 3, 4 y 6; las proyecciones del córtex motor se originan principalmente de la parte medial, región

encargada de los movimientos de ojos, párpados y vibrisas. La proyección del córtex somatosensitivo se origina principalmente del área 2, que a su vez recibe aferencia de la cabeza y cara. Esta proyección termina en la parte ventrolateral y en la extensión mediolateral del DpMe (Veazey y Severin, 1982).

#### 1.1.3.14.2.- Proyección subtalámotegmental

La proyección subtalámotegmental ha sido descrita en ratas, gatos y monos usando la tinción de Weigert o métodos de degeneración como originándose desde la región subtalámica. Sin embargo, mediante inyecciones de HRP y de radioisotopos se ha demostrado que se origina de la zona incerta y termina en la parte ventral del DpMe (Veazey y Severin, 1982).

#### 1.1.3.14.3.- Proyección SC-DpMe

El DpMe recibe una proyección topográficamente organizada desde la lámina intermedia gris del SC hasta las partes lateral y medial, pero más prominente en esta última, otra proyección se origina de la parte dorsolateral de la SNC y termina en la parte mediolateral del DpMe. Además existe una proyección proveniente desde la parte lateral del DpMe contralateral (Veazey y Severin, 1982).

#### 1.1.3.14.4.- Proyecciones del cerebelo

Se han descrito varias proyecciones desde los núcleos intracerebelares hacia el tegmento mesencefálico y VTA. Una de estas proyecciones se origina de la parte lateral del núcleo dentado cursa por el pedunculo cerebelar superior terminando en la parte lateral del DpMe. Por sus conexiones recíprocas con el EP, podría modular la

actividad de los BN, lo que hace suponer que la parte lateral del DpMe podría participar en el control motor suprasegmental (Veazey y Severin, 1982).

#### 1.1.3.14.5.- Proyecciones de la médula oblongada

Una proyección bilateral para el DpMe, se origina de parte dorsolateral del tercio rostral del núcleo olivar inferior de la RF medular, terminando en su parte medial. Esta proyección sería recíproca con las proyecciones hacia los núcleos reticular pontino y gigantocelular de la RF mesencefálica y medular. También cabe destacar la proyección proveniente del complejo nuclear trigeminal cuando las áreas corticales somatosensitivas de la cabeza y cara también envían proyecciones al DpMe (Veazey y Severin, 1982).

#### 1.1.3.15.- Proyecciones eferentes del núcleo mesencefálico profundo

La parte lateral del DpMe envía proyecciones hacia el DpMe contralateral y a núcleos telencefálicos y diencefálicos homolaterales. Al núcleo mediodorsal del tálamo, parte medial de la porción caudal del GP, parte ventromedial del STh y EP (Veazey y Severin, 1980a; Veazey y Severin, 1982).

La parte medial del DpMe presenta proyecciones bilaterales hacia núcleos del tronco del encéfalo y la médula espinal. Hacia las porciones oral y caudal del núcleo reticular pontino y al núcleo gigantocelular de la médula espinal cervical (Veazey y Severin, 1980a; Veazey y Severin, 1982).

#### ***1.1.4.- El modelo de organización funcional de los núcleos basales***

Los progresos en la comprensión de la anatomía, fisiología y farmacología de los BN han llevado a postular un modelo de organización funcional (Ver Figura N° 1, página 49), que asume que las conexiones entre los núcleos de los BN con el córtex cerebral y el tálamo forman circuitos paralelos y separados (Alexander y Crutcher, 1990).

Las áreas sensitivomotriz y asociativas del córtex cerebral envían proyecciones excitadoras GLUTérgicas a los territorios sensitivomotriz y asociativo del estriado, el cual proyecta mediante dos vías estriofugales hacia los núcleos de salida de los BN (GPi/EP y SNR) (Alexander y Crutcher, 1990).

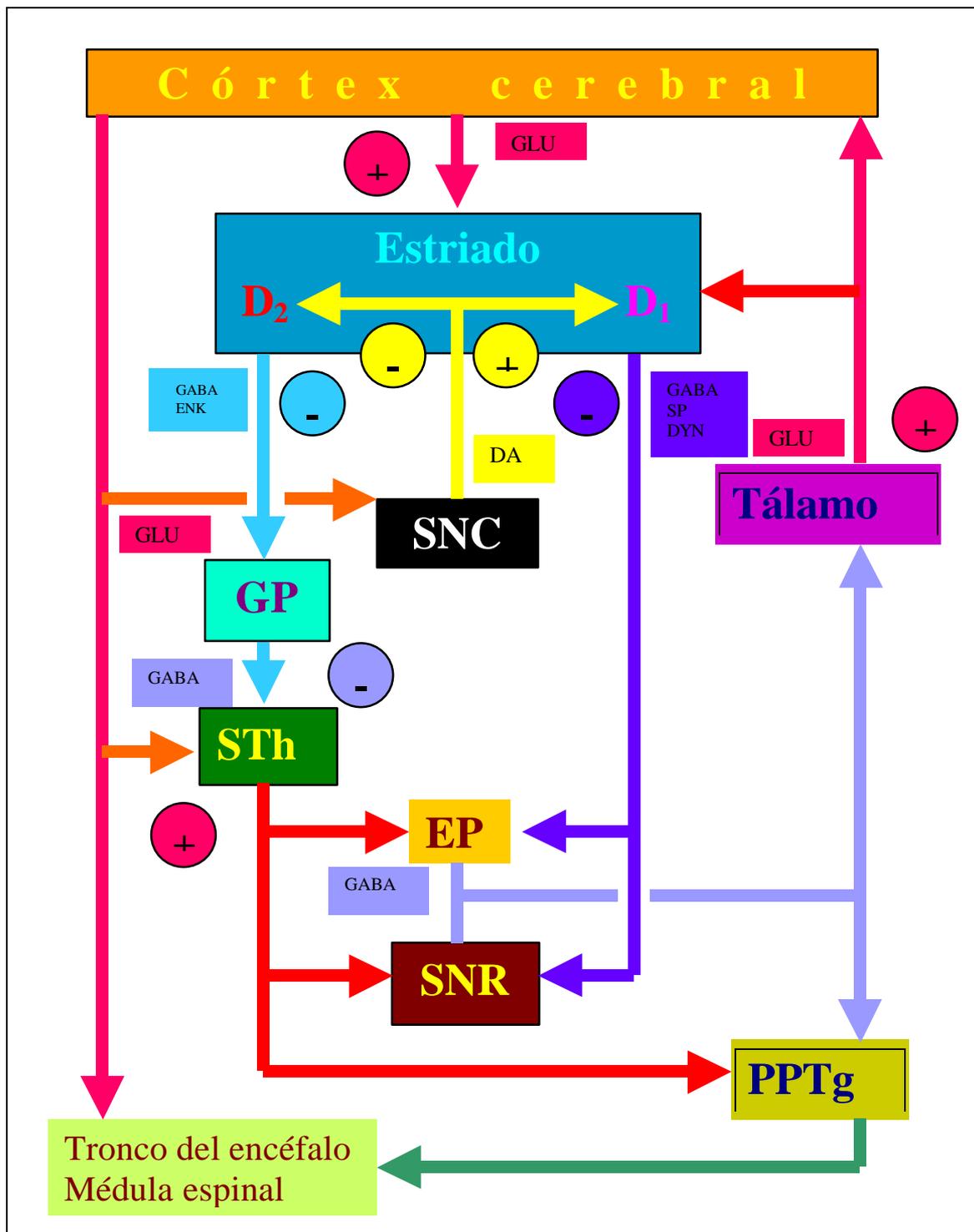
La "vía directa" se origina de las neuronas estriatales inhibitoras con GABA y SP como neurotransmisores su activación produce una desinhibición del tálamo. La "vía indirecta" también es inhibitora con GABA y ENK alcanza primero hasta el GP, luego al STh mediante proyecciones exclusivamente GABAérgica y finalmente desde el STh llega hasta los núcleos de salida mediante una proyección GLUTérgica (Alexander y Crutcher, 1990).

La activación de la proyección estriopalidal inhibitora (GABA/ENK) suprime la actividad de las neuronas palidales de modo que desinhiben el STh, aumentando su acción excitadora sobre los núcleos de salida, los que a su vez aumenta su inhibición sobre el tálamo. Además, la alta frecuencia de descarga de la mayoría de las neuronas palidales ejerce una inhibición tónica sobre el STh (Alexander y Crutcher, 1990).

Durante la ejecución de un acto motor específico, las neuronas relacionadas con el movimiento en el GPi/EP y SNR presentan un aumento o disminución fásica de su frecuencia de descarga espontánea. La disminución fásica juega un papel crucial en el control motor por desinhibición del núcleo VL del tálamo, facilitando los movimientos iniciados corticalmente, el aumento fásico parece tener el efecto opuesto (Alexander y Crutcher, 1990).

Aunque se desconoce como actúan las entradas de las vías directa e indirecta sobre las neuronas del GPi/EP y SNR, es posible que las entradas de las vías directa e indirecta que son activadas selectiva y conjuntamente en relación con un movimiento iniciado corticalmente pueden ser dirigidos al mismo grupo de neuronas. De modo que las entradas de la vía indirecta podrían frenar o enlentecer un movimiento que fue reforzado por la vía directa. Otra posibilidad es que las entradas de las vías directa e indirecta asociadas a un movimiento podrían ser dirigidos a diferentes grupos neuronales, jugando un doble papel en la modulación cortical de los movimientos, reforzando por la vía directa un modelo motor seleccionado o suprimiendo uno conflictivo por la vía indirecta (Alexander y Crutcher, 1990).

La proyección DAérgica nigroestriatal ejerce efectos opuestos sobre las vías eferentes de estriado. Parece tener un efecto excitador sobre las neuronas estriatales de la vía directa y un efecto inhibitor sobre la vía indirecta. De modo, que en su conjunto, la acción de la DA sobre el estriado resfuerza la activación cortical del circuito, facilitando la conducción de la "vía directa", que tiene un efecto excitador sobre el tálamo o suprimiendo la conducción a través de la "vía indirecta" la cual tiene un efecto inhibitor sobre el tálamo (Alexander y Crutcher, 1990).



FÍGURA Nº 1.- Diagrama esquemático de los circuitos motores de los BN en roedores.

### ***1.1.5.- Los núcleos basales y la organización del movimiento***

Los BN forman parte de los circuitos cortico-subcorticales que parecen estar implicados en la programación y ejecución de los movimientos como lo han puesto en evidencia las profundas alteraciones de los movimientos producidos por las enfermedades que los afectan, atribuyéndoseles diversos papeles más específicos, como centro de regulación de la postura o reflejos posturales, de los movimientos automáticos, soporte de las actividades de planificación y aprendizaje motor o la iniciación de los movimientos en ausencia de una orientación sensorial (Alheid, Heimer y Switzer, 1990).

Durante los últimos 30 años se han publicado gran cantidad de estudios sobre la acción de los distintos neurotransmisores integrados en los BN así como sobre el papel de sus distintos núcleos en cada una de las conductas. El resultado ha sido la producción de una extensísima bibliografía que claramente rebasa los límites impuestos por el presente marco teórico. Por esta razón, nos limitaremos a hacer algunos comentarios relativos a la conducta principalmente relacionada con los trabajos experimentales de esta tesis.

### ***1.1.6.- Los núcleos basales en los movimientos de rotación y el control postural***

El estriado es una de las principales estructuras involucradas en la conducta de rotación, recibe una importante proyección aferente de las neuronas DAérgicas de la SNC y a través de la vía estrionigral alcanza las neuronas GABAérgicas de la SNR. La conducta de rotación está bajo la influencia de las neuronas DAérgicas de la SNC y las neuronas GABAérgicas de la SNR (Dichiara et al., 1977).

El control de la postura, también es atribuida a las neuronas DAérgicas nigroestriatales de la SNC y las neuronas no-DAérgicas de la SNR. La lesión unilateral de la proyección nigroestriatal con un neurotóxico DAérgico (como la 6-OHDA) produce una dramática asimetría, consistente en la tendencia del animal a rotar hacia el lado lesionado (rotación homolateral), pero en las lesiones unilaterales electrolíticas de la SN, también efectivas para la destrucción de las neuronas DAérgicas, pero no tanto para las fibras de paso, los animales rotan hacia el lado no lesionado (rotación contralateral), indicando la existencia de neuronas no-DAérgicas que se originan o atraviesan la SN. La inyección unilateral de la SN con ácido kaínico, produce rotaciones contralaterales espontáneas, con una relativa integridad de la SNC y una escasa reducción de la TH, pero una notable disminución de la GAD y CAT en el estriado; lo que hace suponer que el ácido kaínico, deteriora las neuronas no-DAérgicas (GABAérgicas y AChérgicas) de la SNR. Por otra parte, la inyección intranigral unilateral de etanolamina-O-sulfato, que produce una acumulación de GABA endógeno en la neurona, por bloqueo de la enzima GABA transaminasa, también produce rotaciones contralaterales, similares a las producidas por el ácido kaínico, indicando que la destrucción de las neuronas GABAérgicas de la SNR, controlarían las rotaciones de una manera opuesta a las neuronas DAérgicas nigroestriatales. La lesión unilateral de las neuronas DAérgicas nigroestriadas con ácido kaínico produce rotaciones contralaterales independientes de la acción de las neuronas DAérgicas nigroestriatales, que produce una disminución de las neuronas de la SNR. De modo que las neuronas no-DAérgicas de la SNR controlan las rotaciones y la postura de una manera opuesta a las neuronas DAérgicas (Dichiara et al., 1977).

Por otra parte, la integridad del PPTg es necesaria para la prueba de rotaciones inducidas con amfetamina. La lesión unilateral del PPTg esta asociada a los movimientos de rotación, las inyecciones unilaterales de agonistas GABAérgicos en el PPTg inducen rotaciones y

una asimetría postural contralateral, los antagonistas GABAérgicos tienen el efecto inverso. La estimulación del PPTg con ácido kaínico produce rotaciones homolaterales, las que pueden ser bloqueadas por haloperidol (un antagonista DAérgico) y  $\alpha$ -metil-tirosina (un bloqueador de la TH, que reduce la DA y NA neuronal) también las inyecciones bilaterales de atropina en la SN, bloquean las rotaciones inducidas por inyecciones unilaterales de ácido kaínico, sugiriendo una posible interacción DAérgica-colinérgica (Steckler, et al., 1994).

En las lesiones unilaterales de ácido kaínico en el PPTg se producen rotaciones lentas en respuesta a la amfetamina sistémica, las lesiones unilaterales de quinolinato en el PPTg producen una leve inclinación (bias) homolateral en respuesta a la amfetamina sistémica; sin embargo, las lesiones bilaterales de quinolinato no producen efectos sobre la actividad locomotora. Por otra parte, las lesiones de ibotenato producen una leve inclinación contralateral con amfetamina, se ha sugerido que estos efectos se deberían a una pérdida de neuronas AChérgicas y no-AChérgicas del PPTg tras la lesión con ibotenato y a una pérdida mayor de neuronas AChérgicas que las no-AChérgicas (Steckler, et al., 1994).

### ***1.1.7.- Enfermedad de Parkinson***

Las hipótesis y conceptualizaciones sobre las funciones de los BN han sido muy influenciadas por la descripción clínica de los síntomas de las enfermedades de los BN y el estudio de la enfermedad de Parkinson (PD) ha tenido gran influencia en estas discusiones. La observación de que los pacientes parkinsonianos tenían dificultades para la iniciación de los movimientos, llevó a la hipótesis que los BN estaban involucrados en la ejecución automática de los movimientos aprendidos, encargándose de secuenciar los programas motores individuales en una sencilla serie de acciones (Albin, Young y Penney, 1989).

Existen tres categorías de desórdenes motores producidos por alteraciones de los BN: los movimientos hipercinéticos, los hipocinéticos y las distonias. En la hipocinesia, la bradicinesia, la acinesia y la rigidez son los principales tipos de alteraciones, el parkinsonismo es el prototipo de los desórdenes hipocinéticos que se caracterizan por la lentitud de los movimientos, aumento del tono muscular y movimientos espontáneos pausados (Albin, Young y Penney, 1989).

La PD es la más frecuente afección de los BN y una de las enfermedades neurológicas más comunes. A pesar de su alta prevalencia y de ser la causa más importante de incapacidad en las personas mayores, poco se sabe sobre su etiología (Jankovic, 1991).

La PD es una combinación variable de determinados signos atribuibles a una disfunción de los BN, para los cuales no existe una etiología aparente y donde es esperable una respuesta terapéutica a fármacos de acción DAérgica (Giménez, 1991).

El principal sustrato fisiopatológico de la PD es la degeneración de los cuerpos neuronales de la SNC (superior al 80%), que contienen neuromelanina<sup>2</sup>, pérdida anterograda de los axones nigroestriatales ascendentes y sus ramificaciones terminales en el putamen y caudado, lo que provoca una reducción de la DA y una importante pérdida de la neurotransmisión DAérgica. Por lo tanto, puede asumirse que los signos de la PD se deben a una deficiencia de DA en los BN. Aunque existen otras alteraciones bioquímicas su significado en el origen de los signos fundamentales de la PD es desconocido (Jankovic, 1991; Melamed, 1991; Obeso y Artieda, 1991).

---

<sup>2</sup> La presencia de cuerpos de Lewy intraneuronales (inclusiones citoplasmáticas eosinófilas formadas por agregados de filamentos) en las neuronas sobrevivientes es relativamente específico pero no exclusivo de la PD (Giménez, 1991; Jankovic, 1991).

La PD se caracteriza clínicamente por el temblor de reposo, rigidez y acinesia, la alteración de los reflejos posturales puede considerarse un signo tardío en la evolución de la enfermedad (Obeso y Artieda, 1991).

La rigidez se caracteriza por un aumento sostenido de la resistencia al desplazamiento pasivo, que no depende del grado de elongación de la articulación (la resistencia no cede a partir de un cierto ángulo) y sin el predominio neto de ningún grupo muscular. La rigidez aumenta cuando el sujeto realiza un movimiento voluntario, cuando la articulación se desplaza lentamente y casi desaparece al realizar un estiramiento rápido y breve. Típicamente se acompaña de breves e irregulares interrupciones en el desplazamiento articular, debidas a pequeños cambios en la resistencia ofrecida por el músculo a la elongación pasiva (Obeso y Artieda, 1991).

La rigidez parkinsoniana puede desaparecer tras la lesión estereotáxica del núcleo ventral lateral del tálamo; aceptándose que la disfunción DAérgica conlleva una excesiva activación o desinhibición de los circuitos subcorticales mediados por el tálamo lateral, provocando un desorden funcional del sistema motor que produciría un aumento permanente del tono muscular y un aumento de la sensibilidad o excitabilidad central de las neuronas implicadas en los reflejos de larga latencia tanto fásicos como tónicos (Obeso y Artieda, 1991).

La acinesia en un sentido estricto significa ausencia de movimiento; situación que, si bien es posible, no es frecuente en la observación de los pacientes de la PD. Por lo que, la acinesia puede subdividirse en: bradicinesia o lentitud en el inicio y ejecución de los movimientos e hipocinesia o escasez y pobreza de movimientos (Obeso y Artieda, 1991).

La realización de cualquier movimiento precisa la selección, secuenciación y ejecución de varios programas motores. El área motora suplementaria y el complejo estriopalidal juegan un papel primordial en la selección y ejecución de los programas motores. Se ha postulado que en la PD existiría una alteración del área motora suplementaria relacionada con la iniciación de los movimientos autoinducidos y en los que el individuo debe realizar una predicción apriorística de las variables cuantitativas implicadas en dicho acto motor. Por el contrario, el área premotora estaría implicada en la ejecución de los movimientos inducidos por estímulos externos y con una referencia establecida y conocida a través de las vías aferentes (Obeso y Artieda, 1991)

La lentitud de la movilidad en la PD afecta a todos los tipos de movimientos, tanto los reflejos como los voluntarios; encontrándose aumentado el tiempo de reacción y sobre todo el tiempo de ejecución del movimiento. Estudios en monos parkinsonianos por MPTP indican una marcada reducción en las frecuencias de descargas neuronales en el área motora suplementaria y concomitantemente en el área motora primaria, esta anomalía se relacionaría con las alteraciones del potencial premovimiento en la PD, que se genera en el área motora suplementaria y apoyan la hipótesis de una disfunción de esta área en la génesis del fenómeno acinético. Por otra parte, la alteración en el tiempo de reacción y la imposibilidad de los pacientes de mejorar hasta niveles normales su tiempo y velocidad de movimiento aun cuando se les anticipe y avise premonitoriamente, implica una alteración del área premotora, secundaria a una desactivación de las aferencias estriopalidales tras la interrupción de la vía DAérgica, que conlleva a una dificultad en el ensamblaje y ejecución de programas motores complejos (Obeso y Artieda, 1991).

La dificultad de los pacientes parkinsonianos en mantener un ritmo y amplitud adecuada durante la realización de movimientos

repetitivos alternantes, constituye uno de los mejores ejemplos de la hipocinesia. La incapacidad central o cerebral para generar movimientos rítmicos esta muy correlacionada con una incapacidad para discriminar estímulos temporales presentados sucesivamente. Puesto que el tiempo es una variable inherente en cualquier movimiento, se ha propuesto que la alteración de la función temporal en la PD juega un papel trascendental en el origen de la acinesia. Esta pérdida del ritmo temporal que sustenta gran parte de los movimientos automáticos tales como el braceo, parpadeo y otros movimientos repetitivos dependería de las modificaciones que las aferencia palidales provocan en otros sistemas subcorticales, especialmente a nivel del tronco del encéfalo, tales como el PPTg y otros núcleos que se caracterizan por su actividad sincrónica y regular de marcapasos centrales. La alteración de estos relojes internos provoca una disfunción en el dominio temporal de los programas motores y una reducción en la frecuencia de los movimientos repetitivos (Obeso y Artieda, 1991).

#### ***1.1.8.- Los modelos experimentales de la enfermedad de Parkinson***

No se conoce ninguna enfermedad neurológica similar a la PD en animales, pero es posible reproducir experimentalmente varios síntomas extrapiramidales similares. Idealmente un modelo experimental de la PD debería (Mahy, 1991a):

- producir la misma sintomatología clínica, o al menos, los tres síntomas principales: acinesia, rigidez y temblor.
- seguir la misma progresión.
- provocar los mismos cambios histopatológicos y neuroquímicos de la enfermedad: despigmentación de la sustancia negra con deplección de la DA de la proyección nigroestriatal.

- responder correctamente a la terapia con L-DOPA y carbidopa.

#### 1.1.81.- El modelo MPTP

Actualmente, las investigaciones se dividen en dos grupos, según la forma de provocar la lesión: 1) lesiones provocadas por un agente químico y 2) por medios mecánicos o físicos. El mejor agente químico para reproducir la enfermedad tanto en el hombre como en monos, es mediante la administración de una sencilla molécula, el 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), pero otras drogas también usadas son la reserpina, los derivados de la fenotiazina y butirofenona, así como el manganeso y la 6-hidroxidopamina (Mahy, 1991a; Mahy, 1991b).

El MPTP fue sintetizado en 1947 por A. Ziering para una industria farmacéutica, habiéndose llegado a realizar ensayos para determinar su posible valor terapéutico. Sin embargo, después de su administración los primates quedaban rígidos e inmóviles o se morían, por lo que se perdió todo interés. Unos 7 años más tarde el mismo Ziering desarrolló la PD que no se relacionó en aquel momento con su trabajo sobre el MPTP (Mahy, 1991b).

En 1976 un neurólogo de ejercicio privado de Washington comunicó a las autoridades sanitarias el caso de un joven que desarrolló un parkinsonismo agudo y grave tras inyectarse un análogo de meperidina. En 1977 fue ingresado en el Instituto Nacional de Salud Mental de Bethesda para valorar la rápida instauración de un severo cuadro de parkinsonismo y su sorprendente mejoría con la administración de L-DOPA (Jiménez y Ladero, 1990; Portera, 1991).

Este joven californiano de 23 años estudiante de Química, era adicto a las drogas desde la edad de 13 años, su droga favorita era una

combinación de cocaína y meperidina que había aprendido a sintetizar en un laboratorio instalado en el sótano de su casa. Al parecer, al intentar acortar los tiempos de las reacciones químicas elevando la temperatura sintetizó involuntariamente un subproducto, el 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina, (MPTP) (Portera, 1991).

Este caso fue publicado por Davis y cols. en 1979, comprobando una disminución del ácido homovanílico (HVA) en LCE y el estudio necrópsico (falleció por sobredosis de cocaína) demostró una amplia y selectiva destrucción de las neuronas DAérgicas de la SNC y la presencia de cuerpos de Lewy (Jiménez y Ladero, 1990; Mahy, 1991b).

En 1983 Langston y cols. publicaron 4 casos de parkinsonismo grave en jóvenes adictos a la heroína, que se habían inyectado una heroína sintética que acababa de ser introducida en el mercado negro conocida como "nueva heroína" o "heroína de síntesis", en el análisis de la droga inyectada se descubrió MPTP y mínimas cantidades de 1-metil-4-fenil-4-propionoxi-piperidina (MPPP), el MPTP era un producto intermedio en la síntesis de un análogo estructural del narcótico meperidina, el MPPP que era empleada por los jóvenes por ser más barata y menos perseguida que la heroína, es muy inestable a altas temperaturas y bajo pH, por lo que fácilmente genera MPTP; de hecho algunos jóvenes se inyectaron MPTP prácticamente puro; basándose en estos antecedentes se propuso que la MPTP podría ser un neurotóxico selectivo para las neuronas DAérgicas nigroestriatales (Jiménez y Ladero, 1990; Mahy, 1991b).

El primer modelo animal de parkinsonismo por MPTP se debe a R. S. Burns y cols., quienes en 1983 observaron que la administración por vía intravenosa a macacos, provocó la aparición de un cuadro de parkinsonismo asociado con la destrucción selectiva de las neuronas de la proyección nigroestriatal. Otros animales sensibles al MPTP son el

gato, el perro, la rana en la cual provoca un cambio de pigmentación fácilmente observable y las sanguijuelas que se vuelven rígidas e inmóviles. Entre los roedores sólo los ratones de la cepa BL/C57 resultan afectados, las ratas, cobayas y hamsters no responden (Mahy, 1991a).

Los estudios iniciales en ratas por A. Sahgal y por C. C. Boyce y cols. en 1984, demostraron que las inyecciones de MPTP en varias dosis originaba, a corto plazo, una supresión progresiva de la actividad locomotriz con recuperación rápida si cesaba el tratamiento con dicha sustancia o si se administraba D-anfetamina y no APO. En este modelo no se demostraron alteraciones en las concentraciones de DA, 5-HT, ni de sus metabolitos en la SN o CPu, ni de diversos neuropéptidos en algunas áreas cerebrales. Tampoco parecía producirse degeneración neuronal de la SN. Además, J. A. Javitch y cols. en ese mismo año demostraron en estudios autorradiográficos en ratas que la unión de <sup>3</sup>H-MPTP es poco denso en la SN y CPu, lo que explicaría la ausencia de neurotoxicidad en dichas zonas, por lo que se sugirió que la rata no sería un modelo adecuado para el estudio de la PD (Jiménez y Ladero, 1990). En ensayos efectuados este laboratorio se ha podido constatar que la administración aguda de MPTP en ratas genera temblor de reposo, hipertonia e hipocinesia que ceden después de una hora persistiendo tan sólo una hipocinesia moderada (Díaz, 1984).

Sin embargo, se ha demostrado que los tratamientos con MPTP a largo plazo inducen una disminución progresiva de la concentración de DA y daño neuronal en el estriado que se evita con el pretratamiento con pargilina. Estos efectos neurotóxicos parecen ser dependientes de la edad, ya que son mayores en ratas viejas que en jóvenes, lo que posiblemente se relacione con el aumento de la actividad monoaminooxidasa en el CNS que sucede con el envejecimiento. Estudios en ratas tratadas con MPTP demuestran un aumento de la

captación de la misma en la SNC, VTA y *locus ceruleus*, lo que sugiere una neurotoxicidad del MPTP sobre dichas zonas y no selectiva de la SNC (Jiménez y Ladero, 1990).

J. M. Palacios y cols. en 1984 encontraron en estudios autorradiográficos con 2-desoxiglucosa en cobayas tratadas con MPTP que los resultados son superponibles a los observados en ratas; T. L. Perry y cols. en 1985 comprobaron que en cobayas el MPTP produce sedación e hipotonía y no origina ninguna alteración bioquímica en el estriado, ni lesión de las neuronas DAérgicas nigroestriatales, considerándose que este animal tampoco representa un modelo útil para el estudio de la PD (Jiménez y Ladero, 1990).

Los estudios anatómicos y neuroquímicos de G. A. Ricuarte y cols. como los de G. Gerhardt y cols. (1985) en el ratón han comprobado que el MPTP produce una destrucción parcial de las terminaciones DAérgicas en el estriado, que es mayor en las regiones más dorsales del núcleo caudado, también aparece una recuperación incompleta de los marcadores de dichas terminaciones, posiblemente relacionada con el crecimiento por gemación de estas. Sin embargo, también se han encontrado otras pérdidas celulares en el VTA, *locus ceruleus*, núcleo dorsal del rafe y parte lateral del núcleo talámico medial. Por lo tanto, en ratones se producen pérdidas celulares no selectivas de la SNC, no constituyendo un buen modelo para la PD, pero si para estudiar la capacidad de regeneración neuronal tras la lesión (Jiménez y Ladero, 1990).

#### 1.1.8.2.-El modelo rotacional de Ungerstedt

Las primeras lesiones selectivas de la SNC fueron efectuadas por U. Ungerstedt en 1970 con 6-OHDA, el primer neurotóxico selectivo para las neuronas DAérgicas nigroestriatales y que ha sido ampliamente usado en la rata, para el estudio de las funciones del

sistema DAérgico (MacLeod, Ryman Arbuthnott, 1990); U. Ungerstedt y G. N. Arbuthnott (1971) describieron los movimientos circulares inducidos farmacológicamente en ratas con degeneración de las neuronas DAérgicas nigroestriatales unilaterales, tras la administración de d-anfetamina que produce la liberación de la DA en las terminaciones no lesionadas y los animales giran hacia el lado homolateral a la lesión, tras la administración de apomorfina (APO) los animales giran hacia el lado contralateral a la lesión, lo que se debe al desarrollo de una hipersensibilidad en los receptores DAérgicos en el estriado lesionado (De Long y Georgopoulos, 1981).

La 6-OHDA es un análogo de la DA, que debe ser aplicado directamente al parénquima cerebral, ya que no atraviesa la barrera hematoencefálica. Mediante una inyección estereotáxica, la neurotoxina es incorporada selectivamente a la neurona catecolaminérgicas por un sistema de recaptación de alta afinidad, produciéndose la acumulación intracelular de productos citotóxicos como el peróxido de hidrógeno y la 6-hidroxiopamina quinona, que producen la degeneración de las terminaciones nerviosas (Zigmond, et al., 1990).

La lesión unilateral severa (superior al 90%) del sistema nigroestriatal con 6-OHDA, produce un aumento del número de receptores postsinápticos en el estriado denervado, fenómeno conocido como hipersensibilidad por denervación, la administración de APO, que es una mezcla de agonistas D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub>, facilitan la transmisión DAérgica con mayor intensidad en el lado lesionado, generando rotaciones contralaterales a la lesión por el aumento de los receptores en el estriado denervado (Díaz, 1984; Zigmond, et al., 1990; Robertson, 1992).

En un trabajo anterior efectuado en este Laboratorio (Díaz, 1984) se estudió la cinética de adquisición de la hipersensibilidad por denervación y la efectividad de la APO como agonista DAérgico, de él se

puede destacar; que el número promedio de rotaciones contralaterales inducidas por la APO se incrementa progresivamente hasta alcanzar los valores máximos de 51 y 61 rotaciones entre 14 y 21 días, respectivamente; luego se estabiliza hasta contabilizar 57 rotaciones el día 52; y en cuanto a la evolución temporal de la respuesta rotacional a una dosis única de APO, el mayor número se alcanza a los 15 minutos con un promedio de 56 rotaciones y un mínimo de 4 a los 65 minutos.

La destrucción completa (superior al 95% de las neuronas) del sistema DAérgico nigroestriatal produce deficiencias motoras, sensitivas y cognoscitivas irreversibles. Los animales con una lesión extensa pero parcial (80% a 95%) muestran inicialmente severas deficiencias conductuales cuya magnitud se correlaciona con la disminución de la DA estriatal y la desaparición de las neuronas DAérgicas de la SN, una lesión menos severa (inferior al 80%) tiene una escasa repercusión; estableciéndose así, que sólo un 10% a 20% del sistema DAérgico nigroestriatal es necesario para la mantención de las funciones normales. En una lesión moderada se produce un aumento de la síntesis, metabolismo y liberación de la DA en las terminaciones DAérgicas persistentes que posiblemente contribuyan a la capacidad de los animales a mantener relativamente normal la concentración basal de DA en el estriado, si la lesión excede el 90% hay adaptaciones postsinápticas que incluyen la hipersensibilidad de los receptores DAérgicos postsinápticos (Robinson, et al. 1994).

Una de las principales ventajas de la 6-OHDA es que conserva su selectividad por las neuronas DAérgicas cuando es administrada directamente en el tejido cerebral. La inyección esterotáxica de este neurotóxico solo causa una lesión inespecífica inferior a 500  $\mu$ , lesión que es la consecuencia no del propio tóxico sino de la presión generada durante la inyección por el vehículo en el que este va disuelto. Por el contrario, el MPTP no ofrece esta ventaja. La lesión tisular de este tóxico

origina una lesión inespecífica mucho mayor (< 1mm.), lo cual no lo hace particularmente útil en esta modalidad de administración. Además, la afinidad del MPTP por las neuronas DAérgicas es baja en el caso de la rata. Por estas razones decidimos utilizar la 6-OHDA en lugar del MPTP en los experimentos de lesión del sistema DAérgico nigroestriatal.

### ***1.1.9.-Núcleos basales, neurotransmisión dopaminérgica y enfermedad de Parkinson***

Tras la primera descripción de los BN hace más de 300 años y la importancia atribuida a sus funciones motoras y sensitivas, su estudio ulterior perdió interés y fue relativamente abandonado. Durante los siglos XVIII y XIX (desde 1782 hasta 1874) el interés de los neurobiólogos se centró en el córtex cerebral y la localización de las funciones mentales superiores. Pero a finales del siglo XIX y comienzos del siglo XX (desde 1865 hasta 1925) se recobra el interés por describir la complejidad morfológica de los BN y su estudio comparativos en los vertebrados, que coincidió con el descubrimiento de que las lesiones de los BN producían desórdenes motores en los seres humanos (Parent, 1986).

Los más significativos avances en la investigación sobre los BN se han producido a partir de la mitad de este siglo, tras el desarrollo de métodos más sensibles para trazar las conexiones neuronales. Así, por ejemplo, la aplicación de la técnica de la degeneración de plata de Nauta-Gygax (1954) al estudio de las proyecciones eferentes del núcleo lentiforme aportó resultados que aún constituyen una valiosa contribución a la comprensión de la organización anatómica de los BN. Sin embargo, una verdadera revolución ha ocurrido durante las tres últimas décadas con el desarrollo de las técnicas de transporte axonal de marcadores neuronales, que junto con el desarrollo de métodos histoquímicos e inmunohistoquímicos muy sensibles para la localización neuronal precisa de neurotransmisores y sus enzimas relacionadas, han permitido una descripción pormenorizada de las distintas poblaciones neuronales que integran los BN (Parent, 1986).

La expansión actual de los conocimientos del sistema DAérgico comenzaron en 1962, cuando Falck, Hillarp y A. Carlsson y

colaboradores encontraron que al exponer las secciones cerebrales congeladas a los vapores de la formalina formaban productos de condensación fluorescentes. Posteriormente, Dahlström y Fuxe en 1964, establecieron el primer mapeo de las neuronas monoaminérgicas mediante esta técnica de histofluorescencia en el CNS encontrando que una de las regiones con mayor concentración de cuerpos neuronales con monoaminas fluorescentes era la SN (Fallon y Loughlin, 1985), haciendo posible que se iniciaran los registros extracelulares "in vivo" para estudiar las características bioeléctricas de estas neuronas en las regiones donde eran más abundantes (Grace y Bunney, 1980; Chiodo, 1988).

Mediante la técnica de trazadores axonales se ha efectuado una descripción detallada de las prolongaciones neuronales tanto dendríticas como axonales y con ello un mapeo preciso de las conexiones neuronales. Con el desarrollo de las técnicas de registros intracelulares y su combinación con la inyección intracelular de trazadores axonales, se ha podido asociar las características neuroquímicas con las bioeléctricas, facilitando el estudio de un sistema bien definido tanto anatómica como fisiológicamente (Grofova, Deniau y Kitai, 1982).

Las enfermedades del hombre han sido el impulso para la investigación, gran parte de lo que sabemos sobre el sistema DAérgico se debe a las investigaciones sobre la etiología de la PD. Los estudios anatómicos, histoquímicos y bioquímicos han estado estrechamente relacionados con los farmacológicos que han conducido al desarrollo de un tratamiento para tal enfermedad. Pero a pesar de estos enormes progresos, la causa de este trastorno degenerativo sigue siendo desconocida (Fuxe, et al., 1982; Nobel Assembly, 2000).

A continuación se describe una cronología sinóptica de las principales contribuciones que han permitido el desarrollo de los

conceptos anatómicos y fisiológicos básicos sobre los BN y el sistema DAérgico nigroestriatal:

- En 1644 el anatomista inglés THOMAS WILLIS en su tratado "*Cerebri Anatome*" describe por primera vez los núcleos subcorticales hoy conocidos como cuerpo estriado, destacando que ocupan una posición crucial entre el córtex cerebral y el tronco del encéfalo y asume que actúan como receptor de todas las sensaciones e iniciador de todos los actos motores (Parent, 1986).
- Entre 1772 y 1776 JOHN WALSH efectúa experimentos sobre la electricidad en peces, que no son publicados y que constan solo en la correspondencia con otros investigadores (Piccolino y Bresadola, 2002).
- En 1780 LUIGI GALVANI describe experimentalmente la electricidad animal mediante la preparación de la mitad inferior de una rana, insertando un alambre de metal en el canal vertebral y tocando con una sección del nervio crural un músculo de la pierna, produciendo su contracción (Piccolino, 1997).
- En 1786 FELIX VICQ D'AZIR y SAMUEL THOMAS SÖMMERRING (1788) describen simultáneamente la SN. El mismo Vicq d'Azir es el primero en reconocer que los núcleos caudado y putamen pertenecen a la misma estructura, el estriado. (Parent, 1986).
- En 1792 ALESSANDRO VOLTA confirma el hallazgo de Galvani pero atribuye la electricidad generada a un arco bimetálico y sostiene que los tejidos biológicos no son eléctricamente activos. Elabora la "teoría del contacto", metales diferentes generan electricidad cuando se ponen en contacto (Schuetze, 1983; Piccolino, 1997).
- En 1794 GALVANI responde a las objeciones de Volta, estimulando con un arco monometálico y conectando nervio y músculo con secciones de tejidos o directamente. Volta arguye que también la humedad y la composición corporal de las diferentes especies contribuyen a generar una fuerza de contacto (Piccolino, 1997).
- En 1797 Galvani produce contracciones sin contacto heterogéneo, sólo exclusivamente por tejido nervioso, con una de las secciones del nervio isquiático izquierdo tocaba el nervio isquiático derecho, produciendo la

contracción de ambos miembros. Confirmando la "teoría de la electricidad animal". Sosteniendo que la electricidad animal es genuina y existe en todos los seres vivos participando en procesos fundamentales tales como la contracción muscular y la conducción nerviosa, descartando la teoría de los mensajeros del espíritu (Piccolino, 1997).

- En 1817, JAMES PARKINSON un médico londinense de 62 años describe la parálisis agitante en su libro "*Essay on shalking palsy*" (Un ensayo sobre la parálisis agitante) como un síndrome que aparece en la quinta o sexta década de vida, cuyos signos clínicos más relevantes son: "movimientos temblorosos...involuntarios...con los miembros en reposo o incluso apoyados...el tronco flexionado y tendencia a la marcha acelerada". No hizo referencia a la rigidez y rechazó explícitamente la presencia de anomalías de tipo sensorial, emocional e intelectual (Díaz, 1984; García, 1990; Portera, 1991).
- En 1819, KARL FRIEDRICH BURDACH distingue la división entre el cuerpo estriado y el núcleo lentiforme formado por el putamen y el GP (Parent, 1986).
- En 1837, JAN EVANGELISTA PURKINJE describe las primeras células nerviosas, pertenecientes al córtex cerebelar (Stevens, 1974).
- En 1839, MATHIAS SCHLEIDEN y THEODOR SCHWANN enuncian la "teoría celular" (Stevens, 1974).
- En 1850 EMIL DU BOIS-REYMOND descubre el impulso nervioso, mediante el desarrollo de "electrodos no polarizables" que anulaban las corrientes extrínsecas y un "multiplicador para corrientes nerviosas" (o galvanómetro nervioso), que le permiten medir pequeñas fuerzas eléctricas en el interior de un nervio. Conectó los electrodos de su galvanómetro al nervio periférico de un animal de laboratorio, uno a una porción intacta y el otro al extremo seccionado del nervio a corta distancia del primero. Obteniendo una referencia de los impulsos eléctricos nerviosos (Stevens, 1974).
- Ese mismo año su amigo HERMANN VON HELMHOLTZ mide la velocidad del impulso nervioso (25 a 40 m/s), estimulando el nervio de una rana en puntos sucesivos a partir del músculo que inerva (Stevens, 1974).
- En 1851 CLARKE encuentra un procedimiento para fijar el tejido nervioso y luego cortarlo en finas secciones con un cuchillo (Sabaté, 1994).

- En 1854, JOSEPH VON GERLACH aplica la tinción de carmín a las secciones de tejido nervioso y en 1858 enuncia la “teoría reticular de la continuidad del sistema nervioso” (Stevens, 1974).
- En 1865 DEITER aplica la tinción de carmín para diferenciar axones y dendritas (Stevens, 1974).
- También en 1865 JULES BERNARD LUYS describe el STh (Parent, 1986).
- En 1878 CAMILO GOLGI descubre un nuevo colorante para el sistema nervioso que le permitió visualizar la célula completa, con su axón y dendritas. Endurecía, primero el tejido por varios días en soluciones de ácido ósmico y bicromato potásico, colocándolas posteriormente en una solución de nitrato de plata por dos o más días. Se trataba finalmente con alcohol deshidratado, aceite de clavo y aceite de bergamota, tras lo cual lavaba el tejido. Posteriormente, en 1906 Camilo Golgi y Santiago Ramón y Cajal comparten el Premio Nobel (Stevens, 1974).
- A partir de 1880 JEAN M. CHARCOT, comienza a denominar a la parálisis agitante con el nombre de enfermedad de Parkinson, añadiendo la rigidez como uno de los signos esenciales de la enfermedad (Sabaté, 1994 ).
- En 1897 CHARLES SCOTT SHERRINGTON introduce el término “sinapsis”, para designar una zona especializada de contacto donde una célula nerviosa se comunica con otra (Stevens, 1974).
- En 1892 ORDENSTEIN, alumno de Charcot, observa que los extractos de la belladona, administrados para reducir la hipersalivación de un paciente parkinsoniano, producen una evidente mejoría de los trastornos motores de la PD (Sabaté, 1994).
- En 1895 C. VON MONAKOW establece la proyección nigroestriatal al demostrar que la ablación cerebral que incluía porciones del estriado produce una extensa degeneración celular de la SNC (Carpenter, 1981).
- WILHELM VON WALDEYER acuña el término neurona probablemente en 1891(Stevens, 1974).

- A fines del siglo XIX, BRISSARD descubre una despigmentación de la SNC en las autopsias a enfermos parkinsonianos (Sabaté, 1994).
- En 1911 L. EDINGER describe la proyección estrionigral (Carpenter, 1981).
- En 1912 S. A. KINNIER WILSON acuña el término "sistema extrapiramidal" (Parent, 1986).
- En 1918 TRETIAKOFF encuentra los "cuerpos de Lewy" y una reducción en el número de neuronas de la SN de los pacientes parkinsonianos, sugiriendo que esta degeneración podría ser responsable de los síntomas parkinsonianos. Sin embargo, hasta los trabajos posteriores de Hassler en 1938, no se aceptó de forma generalizada que la pérdida de neuronas nigrales es la causa principal de los trastornos motores de la PD (Sabaté, 1994).
- En 1925 A. FERRARO señala que la ablación cortical no produce cambios en la SN y sugiere que estos cambios están relacionados con la lesión estriatal (Carpenter, 1981).
- En 1921 OTTO LOEWI demuestra la liberación de una sustancia transmisora en las fibras cardíacas del nervio vago, que llamo "materia del vago", es responsable de la contracción muscular del corazón de la rana (Stevens, 1974).
- En 1929 HENRY HALLET DALE y H. W. DUDLEY aíslan la ACh en el bazo del caballo (Stevens, 1974).
- En 1936 HENRY H. DALE y cols. demuestran que se libera ACh tras la estimulación eléctrica de las fibras de nervios motores. En ese año H. Dale junto a O. Loewi, comparten el Premio Nobel (Stevens, 1974).
- En 1936 J. Z. YOUNG describe los axones gigantes de los nervios de decápodos cefalopodos, que pueden alcanzar hasta un diámetro de un mm, especialmente en el "gran calamar del Atlántico" (*Logilo pealeii*) (Stevens, 1974).
- En 1938 P. HOLZT, R. HEISE Y K. LUDTKE descubren la enzima Dopa decarboxilasa y formulan la vía de síntesis de catecolaminas (CA), la DA es reconocida como un intermediario entre la norepinefrina y la epinefrina (Carlsson, 1987).

- 
- En 1939 ALAN LLOYD HODGKIN y ANDREW FIELDING HUXLEY junto a KENNETH S. COLE y HOWARD J. CURTIS (en 1940), realizan el mismo experimento; insertan una micropipeta de vidrio de 40-100  $\mu\text{m}$  con solución de agua marina -los primeros- y con solución isosmótica -los segundos- en el axón gigante de calamar, colocado en una solución de agua marina y aún capaz de conducir impulsos bajo estímulo, midiendo el "potencial de reposo" en 45 mV y 51 mV respectivamente, también midieron el potencial de acción en 86 y 108 mV. Analizaron la composición iónica dentro y fuera del axón y postularon en 1952 la teoría de la "bomba de sodio" como mecanismo de la transmisión del impulso nervioso (Stevens, 1974).
  - En 1941 S. W. RANSON y cols. intentan rastrear las fibras nigroestriatales en preparaciones de Marchi, indicando que ascienden y penetran en ambos segmentos del pálido pero no las pudieron seguir hasta el caudado o putamen, sosteniendo que estas fibras eran pobremente mielinizadas en el globo pálido, pero no mielinizadas en el estriado (Carpenter, 1981).
  - En 1950 P. HOLTZ detecta noradrenalina (NA) en el cerebro (Sabaté, 1994).
  - En 1951, JOHN CAREY ECCLES y cols., logran el primer registro intracelular de los EPSPs e IPSPs de una motoneurona del cuerno ventral de la médula espinal activada antidrómicamente. Para ello emplean una micropipeta de vidrio conectada a un osciloscopio, con una punta de medio micrómetro de diámetro y llena con una solución salina que actuaba como base conductora de la corriente. A J. Eccles se le otorga el título de Sir en 1958 y comparte con A. Hodgkin y A. Huxley el Premio Nobel en 1963 (Stevens, 1974; Andersen y Lundberg, 1997).
  - En 1953, EDUARDO O. P. DE ROBERTIS y H. STANLEY BENNETT, describen al microscopio electrónico las vesículas sinápticas, simultáneamente con otros investigadores G. PALADE, S. PALAY, ENGSTRÖM y SJÖSTRAND quienes las encuentran en varias sinapsis del CNS y en la unión neuromuscular (Jaim-Etcherry, 1984).
  - En 1957, K. R. MONTAGU encuentra en extractos cerebrales un compuesto llamado "X", el cual en la cromatografía de papel se comporta como la DA (Carlsson, 1987).

- 
- En 1958, ARVID CARLSSON, mediante estudios de fluorimetría, encontró que la proporción NA/DA no era igual en todas las regiones del cerebro y que concentración de DA en el estriado era mayor que las de la NA, que el 80% de la DA se encontraba en los BN una región que representa menos del 0,5% del peso total del encefalo. Esto le llevó a postular que la DA era un neurotransmisor y no un precursor de la NA en el estriado (Côté y Crutcher, 1990;García, et al., 1991).
  - En 1959, I. SANO y cols. demuestran que las mayores cantidades de DA del cerebro humano se encuentran en el estriado (Sabaté, 1994).
  - También el mismo año A. CARLSSON y cols. observan que la L-3,4-hidroxfenilalanina o levodopa (L-DOPA), un aminoácido que es el inmediato precursor de la DA revertía la acinesia inducida por reserpina en ratones, deduciendo que la acinesia se debía a un defecto de la transmisión DAérgica y predijo que los síntomas de la PD se debían a una deficiencia DAérgica (García, et al., 1991). Carlsson obtuvo el Premio Nobel en el 2000 (Nobel Assembly, 2000).
  - En 1960 H. EHRINGER y O. HORNYKIEWICZ encuentran una disminución superior al 50% de los niveles de DA y su metabolito el AHV en el estriado y la SN y en una menor proporción en el GP de los pacientes parkinsonianos. También la NA y 5-HT (García, et al., 1991).
  - En 1961 A. BARBEAU postula que la DA acumulada principalmente en los BN del cerebro, juega un papel en las funciones motoras extrapiramidales y que en la PD hay una depleción de DA en los BN. El mismo año publica un estudio en el que se demuestra una reducción de DA en la orina de los pacientes parkinsonianos (Sabaté, 1994).
  - También en el año 1961 se publica el trabajo de W. BIRMAYER y O. HORNYKIEWICZ en el que se constata que la administración de L-DOPA reduce la rigidez y la hipocinesia en pacientes con la PD (Sabaté, 1994).
  - En 1962 De ROBERTIS y cols., aislan las vesículas sinápticas, su artículo publicado en *Journal of Neurochemistry* es uno de los 1000 más citados entre 1965 y 1978 (Jaim-Etchverry, 1984).
  - En 1962 B. FALCK y cols. publican una técnica que permite la observación de la fosforescencia de las monoaminas en vapores de formaldehído. El método de

---

Flack-Hillarp, permitió cartografiar por primera vez las vías centrales dotadas de catecolamina (CA) en el encéfalo y la médula espinal. Su artículo publicado en *J. Histochem. Cytochem.* es uno de los 100 más citados entre 1961 y 1982 (Fuxe, et al., 1982; Carlsson, 1987).

- En 1964 A. DAHLSTRÖM y K. FUXE utilizan esta técnica con tejido cerebral describiendo poblaciones neuronales específicas que contienen concentraciones elevadas de NA, 5-HT o DA. Entre las poblaciones DAérgicas describen un grupo celular cuyo soma se encuentra en la parte compacta de la sustancia negra y cuyos axones ascienden por el fascículo prosencefálico medial para acabar innervando el estriado. A esta población de neuronas DAérgicas le denominaron A9 o sistema DAérgico nigroestriatal (Fuxe, et al., 1982).
- En 1960, OLEH HORNYKIEWICZ, confirma las predicciones de Carlsson, encontrando una severa reducción de la DA y uno de sus metabolitos, el HVA en el estriado en los exámenes postmortem de cerebros de enfermos parkinsonianos, también estaban disminuídas la NA y la 5-HT. WALTER BIRKMAYER y ANDRÉ BARBEAU intentaron el tratamiento de la PD y aplicaron a sus pacientes inyecciones intravenosas de pequeñas cantidades de L-DOPA, que a diferencia de la DA atraviesa la barrera hematoencefálica, experimentando ligera mejoría de los síntomas (Côté y Crutcher, 1990).
- Mediante estudios de histofluorescencia N. E. ANDÉN y cols. en 1964 demostraron que las neuronas de la SNC se proyectaban hasta el estriado transportando y liberando DA (Carpenter, 1981; Parent, 1986).
- En 1967 JORGE COTZIAS, un médico griego de Nueva York, trató a los enfermos parkinsonianos con elevadas dosis de L-DOPA, al parecer con el propósito erróneo de repigmentar la SN, logrando una notable y duradera mejoría (García, et al., 1991).
- En 1972 PAUL GREENGARD y MAKMAN y posteriormente L. L. IVERSEN (1975) identifican el receptor de DA estimulado por la adenilato ciclasa en el ganglio cervical superior de mamífero, retina y estriado (Creese, 1982). Greengard obtuvo el premio Nobel en el 2000 (Nobel Assembly, 2000).
- M. GOLDSTEIN en 1972 purifica la enzima decarboxilasa de los L-aminoácidos aromáticos (AADC) en glándulas suprarrenales de bovino, obteniendo los

antisueros específicos tras la inmunización de conejos con AADC purificada. El antisuero anti-AADC inhibe la actividad de la AADC de distintos tejidos en varias especies. También J. G. CHRISTENSON y M. GOLDSTEIN demostraron que inhiben la actividad de la *L*-DOPA, y *L*-5-HTP decarboxilasa del estriado; además, la degeneración de las neuronas DA nigroestriales con 6-OHDA reduce la actividad de la *L*-DOPA, y *L*-5-HTP decarboxilasa del estriado, proponiéndose que una única enzima cataliza la decarboxilación de ambos *L*-aminoácidos aromáticos en el estriado (Fuxe, et al., 1982).

- También en 1972 M. GOLDSTEIN purifica la enzima dopamina-*b*hidroxilasa (DABH) en feocromocitomas humanos, empleando la electroforesis en discos de gel de poliacrilamida, tras la centrifugación en gradiente de densidad con sacarosa. Para inmunizar conejos se empleó la DABH bovina purificada o la humana que fue comprobada por inmunoelectroforesis (Fuxe, et al., 1982).
- En 1976 D. H. PARK y M. GOLDSTEIN purifican la TH a partir de feocromocitomas humanos, empleando la electroforesis en discos de gel de poliacrilamida, tras la centrifugación en gradiente de densidad con sacarosa, los anticuerpos contra la TH, se desarrollaron en conejos y se comprobaron por medio de inmunoelectroforesis, observando que ocasionaban una inhibición específica de la actividad de la enzima. La purificación de las enzimas sintetizadoras de CA permitieron los estudios inmunohistoquímicos para la localización de estas neuronas, empleando anticuerpos contra las enzimas. Así, las neuronas que contienen TH, AADC y DABH representan neuronas DAérgicas, permitiendo su localización topográfica en el encefalo y la cartografía de los sistemas DAérgicos (Fuxe, et al., 1982).
- En 1979 J. W. KEBABIAN y D. B. CALNE publican la primera clasificación de receptores de DA, según la activación o inactivación de la enzima adenilato-ciclase en D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> (Sabaté, 1994).
- En 1973 BENJAMIN S. BUNNEY y cols. identifican las neuronas DAérgicas de la SNC, mediante registros unitarios extracelulares y microinyecciones iontoforéticas extracelulares de *L*-DOPA, detectando el aumento de dopamina intracelular por histofluorescencia (Bunney et al., 1973).
- En 1978 PATRICE G. GUYENET y G. K. AGHAJANIAN utilizan la respuesta antidrómica por estimulación desde los núcleos de proyección y microinyecciones de DA, GABA, 6-OHDA e inyección intravenosa de APO;

logrando distinguir dos tipos de neuronas en la SN: las tipo I (neuronas DAérgicas nigroestriatales), localizadas en la SNC y activadas antidrómicamente desde el estriado, cuya frecuencia de descarga se redujo tras la inyección intravenosa de APO o la microinyección iontoforética de DA y GABA; las neuronas tipo II, están localizadas en la SNR, la mayoría puede ser activada antidrómicamente desde el núcleo VM del talámo, son inhibidas por la aplicación iontoforética de GABA pero no de DA (Guyenet y Aghajanian, 1978).

- En 1980 ANTHONY A. GRACE y B. S. BUNNEY emplearon registros intracelulares combinados con microinyecciones iontoforéticas intracelulares de *L*-DOPA, tetrahidrobiopterina (un cofactor de la TH) o colchicina (un bloqueador del transporte axonal), para aumentar la concentración intraneuronal de DA, detectable por histofluorescencia de catecolaminas, aportando pruebas directas para la identificación de las neuronas DAérgicas (Grace y Bunney, 1980).
- En 1981 SEEMAN propone una nueva clasificación de los receptores en D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> y D<sub>4</sub>. Esta clasificación se hace en función de la afinidad de los receptores a los neurolepticos (Sabaté, 1994).

## **1.2.-Objetivos generales de la presente memoria**

A lo largo de esta breve descripción conceptual sobre la fisiología de los BN y su implicación en trastornos como la fisopatología de la PD. Hemos podido evidenciar que la gran profusión de datos no se acompaña de una idea definitiva de cómo los BN intervienen en la organización del movimiento.

Se trata de muchos millones de neuronas integradas en diversos núcleos y estructurados con interacciones diversas y complejas entre ellos. Además, estas neuronas pueden utilizar distintos neurotransmisores que le confieren un mayor grado de complejidad funcional. A pesar de todas estas dificultades, durante los últimos años se acepta de forma más o menos generalizada un modelo funcional de BN que si bien no tiene un carácter explicativo profundo si nos permite un cierto grado de sistematización, necesaria para estructurar e integrar los numerosos datos experimentales que cada año se añaden al amplísimo acervo bibliográfico disponible en este campo

Este modelo considera al estriado como la estructura central para la organización de los movimientos en los BN. El estriado recibe información sensitiva y motora de todas las regiones del córtex cerebral, este tipo de información es procesada de una manera aún poco conocida pasando luego a través de los dos sistemas de salida del estriado. Esto es, de una vía directa y otra indirecta. A través de la vía directa, la información pasa desde el estriado a las que son consideradas estaciones de salida de los BN, el EP y la SNR. Por la vía indirecta, la información alcanza estos mismos centros, pero atravesando previamente otros núcleos: como son el GP y el STh. Después, desde el EP-SNR, la información va a seguir dos rutas fundamentales; proyectarse nuevamente hacia el córtex cerebral a

través de los núcleos ventrales del tálamo o alcanzar distintos centros del tronco del encéfalo como SC, PPTg o estructuras más difusas y menos conocidas habitualmente nominadas bajo el nombre genérico de RF mesencefálica descendente.

Como indicábamos antes, este organigrama funcional no permite una comprensión profunda de las bases biológicas de la elaboración del movimiento. Si bien ha mostrado carácter predictivo para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de las distintas enfermedades de los BN.

Dentro de este esquema organizativo estamos particularmente interesados en evaluar la SNR como ruta de salida de la información desde los BN dado que, y como comentamos a lo largo del desarrollo de este marco teórico no existe una diferencia neta a nivel morfológico entre las neuronas de la SNR situadas ventralmente a la SNC y las neuronas reticulares de la porción ventral del DpMe, decidimos añadir a nuestro trabajo el estudio de estas neuronas mesencefálicas. Como se señaló en su momento el DpMe ha recibido poca atención de los morfológicos y los fisiólogos y en la actualidad no está incluido como parte integrante en la organización funcional de los BN. Por tanto, los resultados que pudiéramos obtener en estos trabajos tendrían el interés añadido de aportar información en un ámbito previamente poco estudiado.

Otro de los aspectos que queríamos evaluar era la posibilidad de que la vía directa, estrionígrica fuera algo más compleja que la simple proyección GABAérgica aceptada en la actualidad, de hecho, algunas evidencias experimentales ya comentadas sugerían la posibilidad de que otros neurotransmisores pudieran ser liberados por las neuronas estrionígrales por este motivo pusimos especial interés en la evaluación electrofisiológica de las proyecciones que alcanzan a la SN y el DpMe

desde el estriado. A ello añadimos el estudio de las proyecciones nigrocolícuales y nigropedunculares; así como, las pedunculonigrales. Como se verá, de forma específica en Material y Método, la estrategia experimental general, en registrar neuronas de la SNC, SNR y DpMe, proceder a la identificación de sus proyecciones a través de la estimulación antidrómica desde los principales centros de salida para la SNR, núcleo VM del tálamo, SC y PPTg. Por último, se procedía a identificar posibles acciones transinápticas tanto excitadoras como inhibitorias sobre cada una de estas poblaciones neuronales.

Finalmente, estábamos interesados en evaluar el posible papel de cada uno de estos grupos neuronales en la fisiopatología de la PD. Como ya se comentó esta enfermedad cursa con una degeneración de las neuronas DAérgicas de la vía nigroestriatal, en este caso nuestra estrategia experimental consistió en lesionar con un neurotóxico selectivo (6-OHDA) las neuronas DAérgicas nigroestriatales y evaluar el efecto de esta lesión sobre las distintas poblaciones neuronales y las distintas aferencias y eferencias de la SNR y DpMe.

Estos experimentos aportan una gran cantidad de datos, algunos de los cuales han sido estructurados para ser incluidos en esta memoria con ello quiero decir que no todos los resultados encontrados serán incluidos aquí, permaneciendo una importante parcela de los mismos para estudios posteriores (Rodríguez, Abdala y Obeso, 2000; Rodríguez et al, 2001).

## **Capítulo 2**

### **Material y Método**

## **2.- MATERIAL Y METODO**

### **2.1.- Método electrofisiológico de registro**

*Se emplearon electrodos extracelulares para registrar la actividad unitaria de las neuronas de la SNC, SNR y DpMe. Esta técnica ya ha sido empleada en estudios anteriores de este Laboratorio (Castellano, 1991; Damas, 1995) y consiste en un sistema de registro, de estimulación eléctrica y procesamiento computarizado de la actividad eléctrica unicelular a tiempo real. Complementada con una técnica histológica y un análisis estadístico.*

*Mediante esta técnica, se pudieron efectuar registros extracelulares unitarios de buena calidad y estables por más de 1/2 horas en un mismo animal.*

*Las principales dificultades que debieron resolverse fueron:*

- reducción el artefacto del estímulo en los electrodos de estimulación a menos de 1 ms.*
- implantación simultánea de tres electrodos de estimulación y un electrodo de registro, en el sitio de la craneotomía.*
- implantación estereotáxicamente correcta de los electrodos.*
- interferencia de pulsaciones cardíacas, ruidos respiratorios y movimientos de vibrisas y miembro posterior homolateral (estos últimos, postestimulación del PPTg) durante el registro.*
- adecuada dosificación suplementaria del anestésico.*

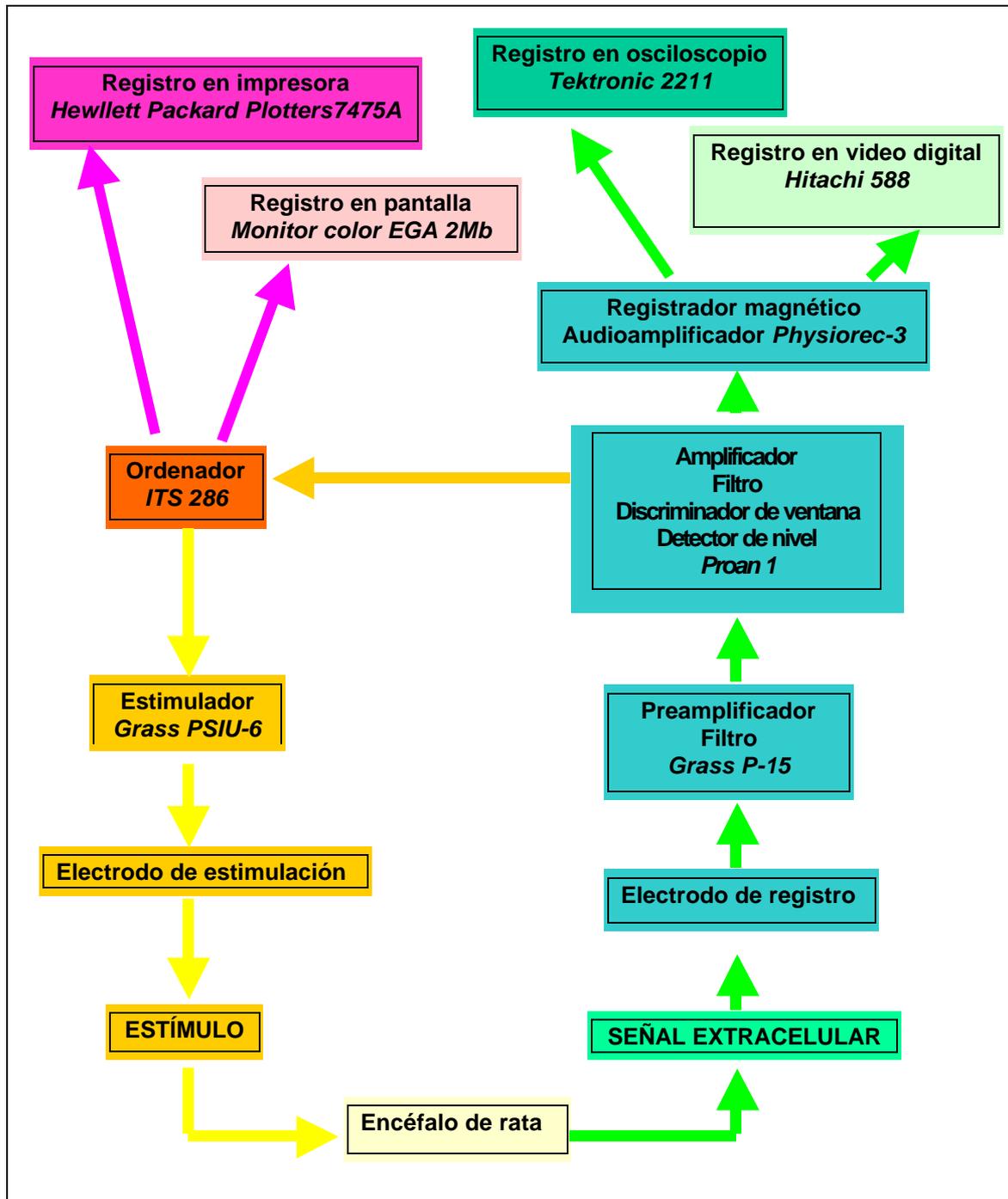
#### **2.1.1.- Sistema de registro**

*El sistema empleado para los registros unicelulares de la actividad neuronal se resume en la Figura N° 2.*

*El animal es colocado sobre una mesa antivibratoria en una jaula de Faraday, para reducir las interferencias electromagnéticas. La micropipeta con su porta-micropipeta es conectada a un preamplificador(Grass, P-15), situado lo más próximo posible. Las señales preamplificadas pasan a una unidad de amplificación, filtrado (200 a 5000 Hz) y discriminación de alto voltaje (Proan 1, Direlec). El discriminador de ventana permitía aislar los potenciales de acción de los artefactos producido por las estimulaciones eléctricas. La señal analógica amplificada y filtrada se envió a un audioamplificador (Physiorec-3, Cibertec) que permitía registrar la señal en un vídeo digital (modelo 588, Hitachi, Japan), en un osciloscopio digital (Tektronic, 2211) y en a un ordenador (ITS 286) (Castellano, 1991).*

2.1.2.- Estimulación eléctrica

Se utilizó un estimulador digital de 2 canales (Grass S8800) con unidades de aislamiento óptico (Grass PSIU-6). La estimulación se efectuó con pulsos cuadrados de 0,2 a 1 mA y 3 ms.



FÍGURA Nº 2.- Esquema del sistema de registro extracelular unipolar de la actividad neuronal espontánea.

### 2.1.2.1.- Animales y anestesia<sup>3</sup>

Las ratas fueron anestesiadas con 400mg/kg de hidrato de cloral (Vorquímica, Vigo) al 8% (p/v) en una solución isotónica de NaCl al 0,9% (B. Braun Medical, Barcelona), por vía intraperitoneal, con aplicaciones suplementaria durante el período de registro mediante la implantación de una cánula intraperitoneal. También, durante el período de registro se monitorizó y mantuvo la temperatura corporal en  $37 \pm 0,3$  °C.

### 2.1.2.2.- Cirugía estereotáxica

La implantación de los electrodos se efectuó en un aparato estereotáxico (modelo SR-6, Narishige, Japan) y las coordenadas estereotáxicas se determinaron con la ayuda de un atlas (Paxinos y Watson, 1986).

### 2.1.2.3.- Construcción de microelectrodos

#### 2.1.2.3.1.- Electrodo de registro

Se emplearon pipetas de vidrio como electrodos de registro. Las micropipetas se prepararon a partir de tubos capilares de vidrio (borosilicato), con filamento interno (A-M SYSTEM INC. U.S.A.) y utilizando un estirador de pipetas, (modelo PE-2, Narishige, Japan). Estas micropipetas se llenaba con una solución de 1% de Azul de pontamina 6BX (BDH Chemicals, England) en NaCl 2 M (23,3 g/200 ml) y se unía a un portamicropipeta (modelo RC1, World Precision Instruments, U. S. A.), comprobándose bajo lupa binocular (modelo SMZ-U, Nikon, Japan) la ausencia de burbujas en la punta y una impedancia a 1.000 Hz de entre 7-10 M $\Omega$ . Luego, la micropipeta con su portamicropipeta se montaba en un una torre portaelectrodo (modelo SM-15, Narishige, Japan), acoplada a un micromanipulador hidráulico (modelo MO-8, Narishige, Japan).

Con la micropipeta de registro, se efectuaron trayectorias descendentes consecutivas para identificar y registrar las neuronas del DpMe, la SNC y la SNR.

#### 2.1.2.3.2.- Electrodos de estimulación

---

<sup>3</sup> Los experimentos se efectuaron siguiendo las directivas del Consejo de Europa (86/609/EEC) y el R.D. 223/1988, de 14 de marzo; sobre la protección y utilización de animales de experimentación, procurandoles el mínimo dolor, sufrimiento o angustia.-

Para la estimulación de la cabeza del núcleo CPu, núcleo VM del tálamo, lámina intermedia del SC y PPTg, se construyeron electrodos bipolares no concéntricos (dobles, paralelos) de acero inoxidable (A-M SYSTEM INC. U.S.A.) con una punta de 0,3 mm de diámetro y una separación de 1 mm para el CPu y 0,5 mm para los otros núcleos. Afilados en una solución 1/1 v/v de ácido sulfúrico 96% y ácido fosfórico 85% con una corriente alterna de 60 Hz y aislados con Sylgar (Sylgar 184; Dow Corning, Wiesbaden, Germany) con una punta de 0,5 mm de longitud sin aislar. Estos electrodos se implantaban para identificar y clasificar las neuronas de la SNC, SNR y DpMe, mediante la respuesta antidrómica, considerándose como requisitos para ello, la presencia de un potencial por estímulo con latencia fija, durante la estimulación de alta frecuencia (50 Hz) y colisiones espontáneas entre potenciales.

Las coordenadas estereotáxicas de estimulación se presentan en la TABLA N° 1:

**TABLA N° 1. - Coordenadas estereotáxicas de los núcleos de estimulación.**

Núcleo de estimulación	Antero-posterior	Lateral	Profundidad <sup>4</sup>
Caudado-Putamen	0,0 (Bregma)	3,2	5,0
Núcleo Ventromedial del tálamo	-2,5 (Bregma)	1,5	6,5-7,0
Colículo superior	1,7 (Lambda)	1,5-2,0	4,0-4,5
Pedunculopontino Tegmental	0,0 (Lambda)	1,5-2,0	7,5

#### 2.1.2.4.- Identificación de neuronas

Al encontrarse una neurona DAérgica de la SNC, se la estimuló antidrómicamente desde el estriado, si su respuesta antidrómica cumplía con los dos requisitos establecidos, se la identificó como neurona dopaminérgica nigroestriatal.

Las neuronas que se encuentran por debajo de las DAérgicas nigroestriatales, se presumieron pertenecientes a la SNR y se clasificaron como: nigrotalámica, nigrocolicular o nigrotegmental, según su respuesta antidrómica a la estimulación desde el tálamo, colículo superior o PPTg, respectivamente. Las neuronas que estaban sobre la SNC se consideraron pertenecientes al DpMe, procediéndose a su identificación, según la respuesta antidrómica.

<sup>4</sup> desde el córtex cerebral.-

### 2.1.2.5.- Protocolo de registro

En un protocolo se registraron las coordenadas de localización de la de cada neurona (anteroposterior, lateral y profundidad) y la latencia de la respuesta a la estimulación por observación y medición directa en el osciloscopio y posterior revisión de las cintas de vídeo en los estudios de la respuesta transináptica. Sólo se considero la respuesta precoz (inferior a 15 ms) con dos categorías inicio y fin de la excitación e inhibición transináptica. Teniendo especial cuidado en registrar las respuestas excitatorias que fueran solapadas por el artefacto del estímulo (2 a 4 ms). También se imprimió la forma de onda de cada neurona

### 2.1.3.- Análisis computarizado de la actividad neuronal

El sistema empleado para el registro, análisis primario y almacenamiento de la actividad unicelular de las neuronas, se efectuó mediante el hardware disponible y un software desarrollado previamente (Castellano, 1991).

El hardware esta formado por una computadora ITS 286, con un reloj de 8-12 Mhz, disco duro de 20 Mbytes, una unidad de disco de 1,2 Mbytes, ampliado con una tarjeta Lab-Master con 5 relojes de 1 Mhz, 5 contadores de 2 bytes, conversor A/D y D/A con salidas y entradas digitales: un monitor color EGA, 2 Mbyte de memoria RAM y una impresora matricial Plotter Hewlett Packar, modelo 7475A, como periféricos.

El software consta de un paquete de programas llamado ABE(Analizador Bioeléctrico Extracelular); programado en lenguaje True-basic, con varias subrutinas en lenguaje ensamblador. Este software tiene por finalidad: registrar y procesar varios parámetros de la actividad neuronal, controlar al estimulador y almacenar la información para su posterior análisis.

Los parámetros que se obtenían con el programa ABE fueron:

- Hertzios totales (Hz): potenciales de acción por segundo.
- Media y desviación estándar de los intervalos interpotenciales
- Coeficiente de variación (CV)de los intervalos interpotenciales
- Histograma de tiempo periestímulo, es una representación gráfica de la sumatoria de todos los potenciales de acción que ocurren tras un estímulo. Este histograma permite visualizar la latencia y duración de la respuesta (excitatoria o inhibitoria) a la estimulación.

### 2.1.4.- Análisis estadístico

El análisis estadístico se efectuó mediante el programa STATISTICA(Statsoft; Tulsa, U.S. A.) con las pruebas, ANOVA de una vía y LSD para las comparaciones post hoc. Se considero un nivel de significación estadística del 0,05.

### 2.1.5.- Técnica histológica

Para la localización de los sitios de registro se efectuaron técnicas iontoforéticas e histológicas postmortem.

Al terminar la sesión de registro, se aplicarán iontoforéticamente con una fuente de corriente de precisión (modelo 51413,), una corriente de 20 uA durante 20 s a cada electrodo de estimulación para producir depósitos de iones férricos en el cerebro y también al electrodo de registro una corriente de 20 uA durante 20 min.

Con el animal aún anestesiado se le perfunde el encéfalo por vía intracardiaca con 50 ml de formol al 10% (p/v) y ferrocianuro de potasio al 1% (p/v)(10 g. de ferrocianuro de potasio (Sigma, U. S. A.) en 1 lt de formol al 10%<sup>5</sup>), para su fijación.

El encéfalo removido, se conserva por varios días en la solución de formol al 10% (p/v) y ferrocianuro de potasio al 1% (p/v); el ferrocianuro de potasio tiñe de azul el Fe depositado por los electrodos de estimulación. Luego, los siguientes pasos corresponden a la técnica metacromática de formol-tionina simplificada (Donovick, 1974):

- Lavar brevemente el encéfalo con agua corriente.
- Cortar el cerebro en secciones frontales de 50 um de espesor.
- Montar en portaobjetos tratados previamente con gelatina.
- Deshidratar al aire libre durante 48 a 72 horas.
- Deshidratar en formol-tionina al 0,1% (1 g de tionina en 1.000 ml de formol al 10%); durante 1 min.
- Lavar brevemente la sección con agua corriente.
- Deshidratar al aire libre durante 48 horas.
- Montar el cubre en Eukitt (O. Kindler GmbH Co. Freiburg, West-Germany).

---

<sup>5</sup> 250 ml. de formaldehído 34-38%(p/p)(Panrec, Barcelona) se diluyeron en 750 ml. de solución isotónica de NaCl al 0,9%(R. Braun Medical, Barcelona).

## 2.2.- Método de lesiones cerebrales

Se efectuó la lesión de la SNC y el tracto nigroestriatal, mediante una doble inyección unilateral (derecha) con un neurotóxico DAérgico(6-OHDA), para asegurarse una lesión del 90% de neuronas DAérgicas de la SNC.

### 2.2.1.- Preparación del neurotóxico

La 6-OHDA es una neurotoxina que destruye las terminaciones nerviosas DAérgicas. Es un sólido blanco fotosensible e higroscópico, la 6-OHDA hidrobromada con ácido ascorbico, es una preparación estabilizada con un antioxidante. La 6-OHDA HBr, se preparó agregando 2 ml de solución isotónica de NaCl al 0,9% (B. Braun Medical, Barcelona), formándose una solución de 10 mM de 6-OHDA HBr y 0,01% de ácido ascórbico (Research Biochemicals International, 1996).

### 2.2.2.- Animales y anestesia

Se utilizaron 57 ratas Sprague-Dawley, albinas, macho(Panlab, Barcelona) de 250 a 300 g alojadas en grupos de 4 en jaulas de polipropileno, con tapa de acero inoxidable y mantenidas bajo condiciones estándar de laboratorio: un ciclo fijo de luz-oscuridad de 12 horas y a temperatura regulada de  $20 \pm 2$  °C, con libre acceso a agua potable y alimento de laboratorio (Panlab, Barcelona).

Las ratas fueron anestesiadas vía intraperitoneal con 0,3 ml de Imalgène (Rhône Mérieux, Lyon) y 0,15 ml de Rompún (Bayer AG, Leverkusen).

### 2.2.3.- Cirugía estereotáxica

#### 2.2.3.1.- Ratas lesionadas

La lesión se efectuó mediante procedimiento estereotáxico, a 20 ratas se les inyectaron con una jeringa de microprecisión un volumen de 4 ul del neurotóxico a una velocidad de 4 min y se mantuvo la aguja durante 1 min en la misma posición antes de ser retirada. La jeringa (Hamilton de 10 ul con una cánula de 400um de diámetro externo: Gastight N 1701 U.S.A.) fue montada sobre un portajeringa (modelo 5002, H 700 Kopf, U.S.A.) de una unidad de microinyección (modelo 5000 Kopf, U.S.A.).

Las coordenadas estereotáxicas para la lesión de la SNC fueron: antero-posterior<sup>6</sup> 4,52 mm; lateral<sup>7</sup> 2,00 mm y profundidad<sup>8</sup>

---

<sup>6</sup> desde el bregma

7,60 mm. Las coordenadas estereotáxicas para la lesión del tracto nigroestriatal fueron: anteroposterior 3,80 mm; lateral 1,50 mm y profundidad 8,00 mm.

Sólo se efectuaron registros electrofisiológicos en ratas lesionadas transcurridos más de un mes de la lesión.

#### 2.2.3.2.- Ratas control

A 14 ratas se les inyectó un volumen de 4 ul de la solución isotónica de NaCl al 0,9% (B. Braun Medical, Barcelona), a una velocidad de 4 min y se mantuvo la aguja durante 1 min en la misma posición antes de ser retirada.

#### 2.2.4.- Prueba de rotaciones

Se indujeron rotaciones farmacológicamente, mediante la administración periférica de un agonista DAérgico (apomorfina, APO) para comprobar la efectividad de la lesión del sistema nigroestriatal derecho, con una inyección intraperitoneal de 0,5 ml de APO.

#### 2.2.5.- Preparación del agonista dopaminérgico

Se disolvieron 5 mg de APO hidrociorada (Sigma, U. S. A.) en 10 ml de solución isotónica de NaCl al 0,9% (B. Braun Medical, Barcelona).

Transcurridos 15 días de la lesión las ratas fueron introducidas en cubos de cristal de 25 cm de longitud por lado. Se contabilizó el número de rotaciones completas y la dirección de las mismas, por observación directa, durante un período de 5 min transcurridos 15 min de la inyección de la APO; se consideró aceptable un número mínimo de 6 rotaciones seguidas y se observó un máximo de 68 (MacLeod, Ryman Arbuthnott, 1990).

---

<sup>7</sup> desde la sutura sagital

<sup>8</sup> desde la duramadre

## **Capítulo 3**

### **Resultados y Discusión**

### **3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

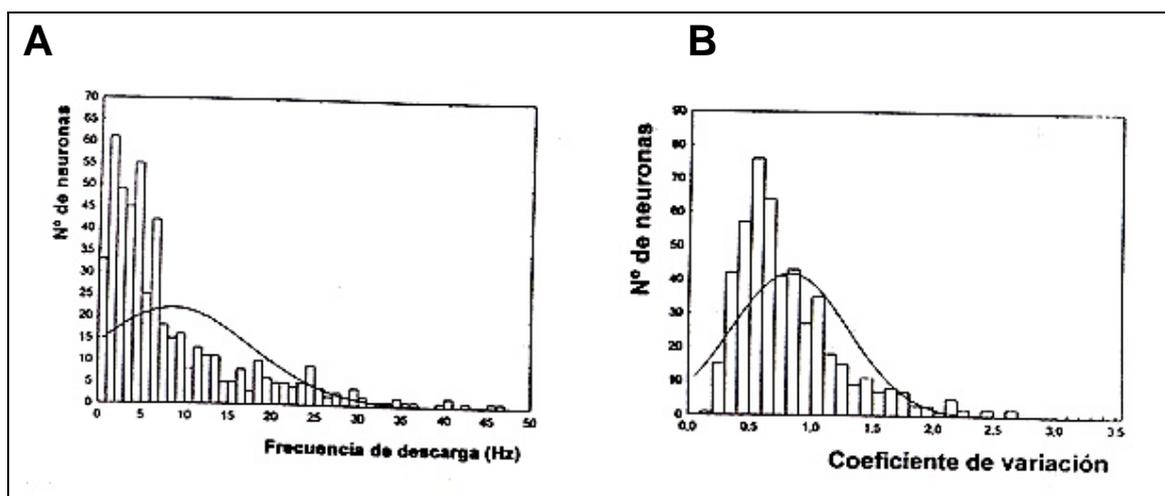
#### **3.1.- Muestra experimental**

Se registraron y analizaron un total de 629 neuronas, de las cuales: 409 (65,02%) neuronas pertenecían a ratas intactas, 88 (13,99%) a ratas controles y 132 (20,98%) a ratas lesionadas. Al no encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre las neuronas registradas en ratas no operadas o intactas y las operadas o controles; se consideraran ambas en conjunto, como 497 (79,01%) neuronas de ratas controles. A continuación se comentan las principales características de la actividad basal espontánea de este grupo de neuronas.

Como indicadores de la actividad basal, se emplearon dos parámetros: 1) la frecuencia de descarga, o sea, el número de potenciales de acción por segundo (Hz), como indicador de centralización de los intervalos interpotenciales y 2) el coeficiente de variación de la duración del intervalo interpotencial (CV), como indicador de la variabilidad de los intervalos interpotenciales.

En el GRÁFICO N° 1 (página siguiente), se muestra la distribución de las neuronas en función de su frecuencia de descarga (A) y del CV (B). Como puede apreciarse todas las neuronas registradas tenían una frecuencia de descarga inferior a 50 Hz y la mayoría inferior a 10 Hz. Una gran cantidad de neuronas presentó un CV inferior al esperado, que para cualquier frecuencia de descarga es 1. La mayor incidencia neuronal se encontró en el rango de 0,3 a 0,9.

Se encontró un total de 206 (41,44%) neuronas que presentaron respuesta antidrómica y a las cuales pudo asignársele un núcleo de proyección, la gran mayoría de las neuronas registradas proyectan al estriado, en un 63,59%, seguidas del tálamo con un 20,87%, luego el PPTg con 7,28% y finalmente el SC con 4,36%.

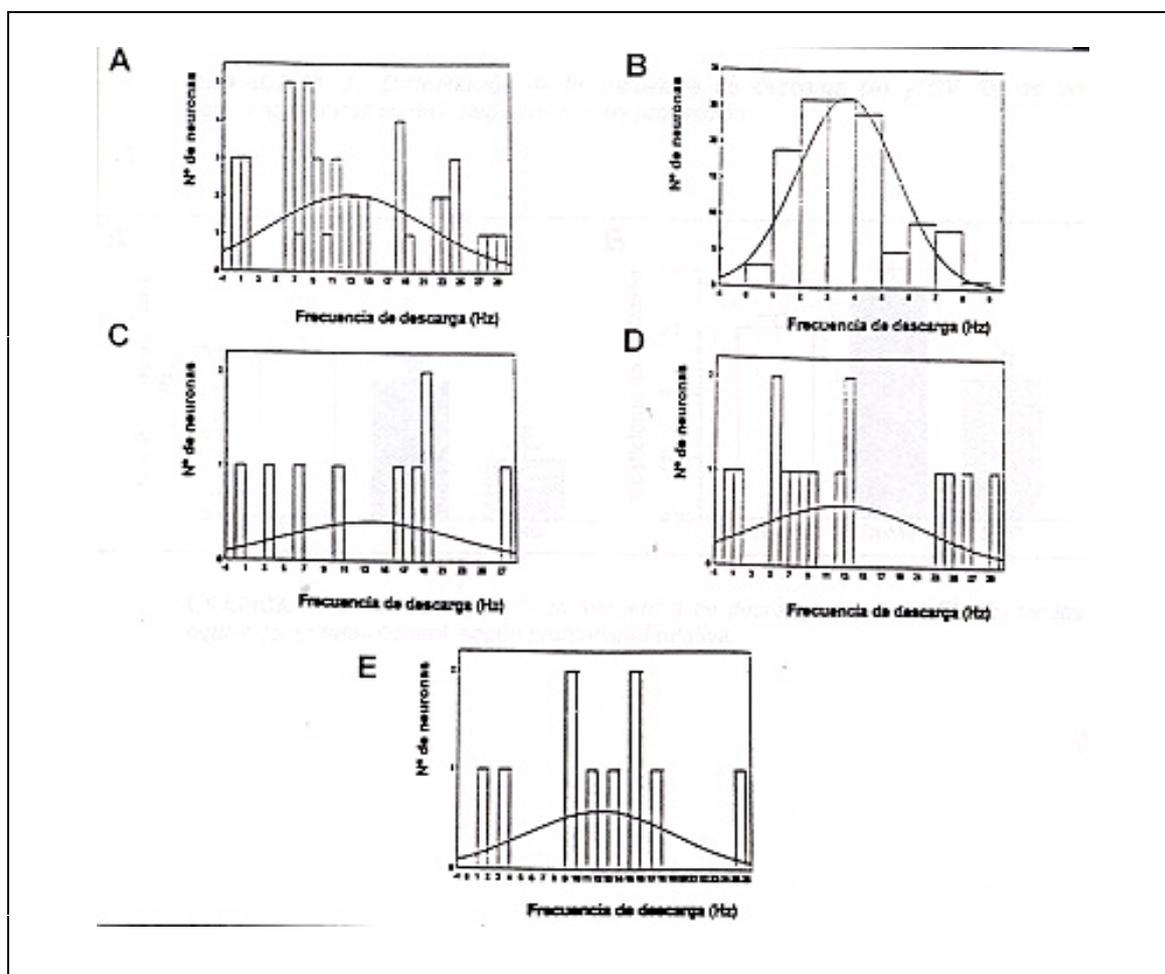


**GRÁFICO N° 1.-** Histograma de la distribución de las neuronas controles, según la frecuencia de descarga (A) y CV (B).

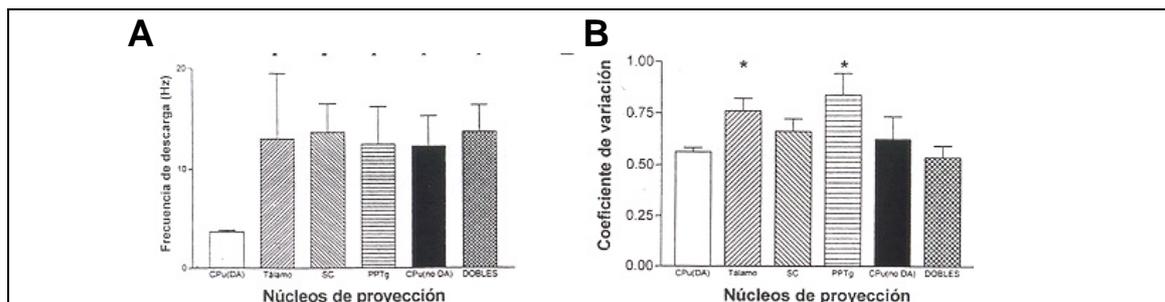
La distribución neuronal de la frecuencia de descarga y del CV fue diferente en las distintas poblaciones neuronales estudiadas. En el caso de las neuronas DAérgicas nigroestriatales todas estas neuronas mostraron una frecuencia de descarga inferior a 9 Hz, encontrándose la mayoría en el rango de 1 a 5 Hz (ver GRÁFICO N° 2.A, página siguiente). Las otras poblaciones neuronales mostraron una gran dispersión, con un amplio rango (de 1 a 30 Hz) tanto para las nigrotalámicas (ver GRÁFICO N° 2.B), como para las nigropedunculares (ver GRÁFICO N° 2.C), nigrocolículares (ver GRÁFICO N° 2.D) y nigroestriatales (no-DAérgicas) (ver GRÁFICO N° 2.E).

Sin embargo, la frecuencia de descarga fue superior (ANOVA,  $f=29,20$   $p<0,000001$ ) en las otras poblaciones neuronales estudiadas con respecto a las DAérgicas nigroestriatales (ver GRÁFICO N° 3.A, página 89). También se observaron diferencias significativas (ANOVA,  $f=5,19$   $p<0,001$ ) para el CV como se muestra en el GRÁFICO N° 3.B. observándose en relación con las neuronas DAérgicas nigroestriatales un CV más elevado en las neuronas nigrotalámicas ( $p<0,0001$ ) y nigropedunculares ( $p<0,001$ ).

De todas las neuronas registradas en las ratas controles se les pudo asignar un lugar inequívoco para la localización de su soma neuronal a un total de 347 (69,81%) neuronas, según este criterio (ver PÁGINA 104), las neuronas se clasificaron en tres grupos: DpMe, 123 (35,44%); SNC, 121 (34,87%); y SNR, 103 (29,68%). Otras 150 (30,18%) neuronas no fueron incluidas en este análisis, por no haberse encontrado durante la sesión de registro neuronas DAérgicas nigroestriatales para su referencia relativa.

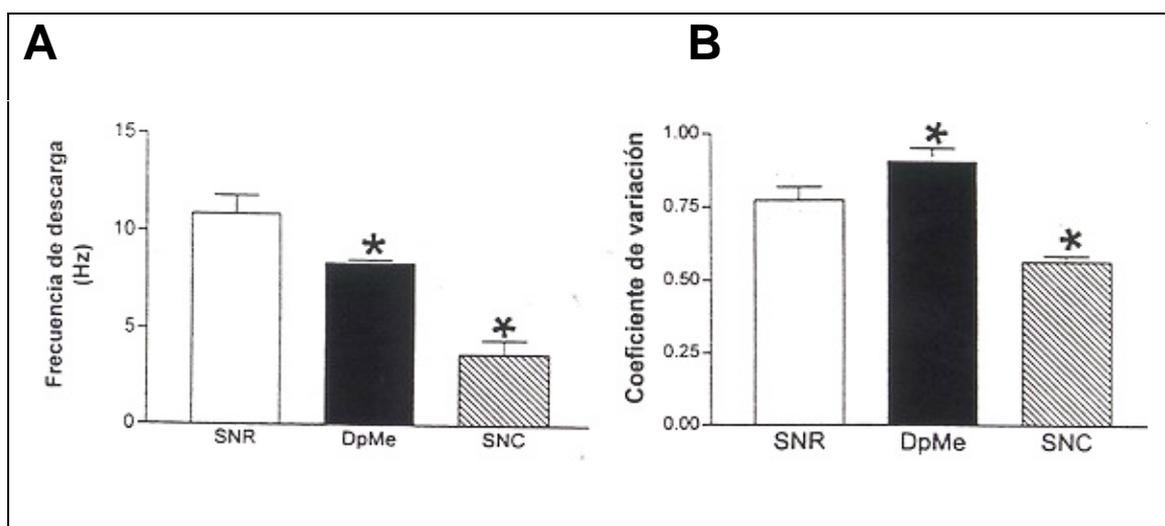


**GRÁFICO N° 2.-** Histograma de la distribución de las neuronas DAérgicas nigroestriatales (A), nigrotalámicas (B), nigropedunculares (C), nigrocolícuales (D), y nigroestriatales no DAérgicas (E) en ratas control, según la frecuencia de descarga.



**GRÁFICO N° 3.-** Distribución de la frecuencia de descarga (A) y coeficiente de variación (B) de las neuronas en ratas control, según núcleo de proyección.

Se encontraron diferencias significativas en la distribución neuronal según frecuencia de descarga (ANOVA,  $f=29,02$   $p<0,0000001$ ) (ver GRÁFICO N° 4.A) La frecuencia media más alta la presentan las neuronas de la SNR (10,86 Hz), seguidas de las neuronas del DpMe (8,38Hz) y con una media mucho más baja se encuentran las neuronas de la SNC (3,69Hz). También hay diferencias en el CV (ANOVA,  $f=19,92$   $p<0,0000001$ ) (ver GRÁFICO N° 4.B) el valor más alto lo presenta el DpMe con 0,90 ( $p<0,05$  v/s DAérgicas); seguido de la SNR (0,77;  $p<0,0001$  v/s DAérgicas) y el valor más inferior lo presenta la SNC con 0,56.



**GRÁFICO N° 4.-** Distribución de la frecuencia de descarga (A) y del coeficiente de variación (B) de las neuronas en ratas control, según profundidad relativa.

### **3.2.- Experimento 1:**

#### **Evaluación de la acción de las proyecciones estrionigrales sobre la actividad de la sustancia negra reticulada.**

##### **3.2.1.- Objetivos**

- Describir la actividad basal espontánea de las neuronas de la SNR en ratas control.
- Describir las características electrofisiológicas de la respuesta de las neuronas de la SNR a la estimulación estriatal.
- Comparar la actividad basal de las neuronas de la SNR en ratas controles y sometidas a una degeneración experimental del sistema nigroestriatal.

##### **3.2.2.- Diseño experimental**

Se efectuó un estudio con un diseño experimental factorial 2x3; con dos variables independientes y dos variables dependientes. Una variable independiente intergrupar; la lesión unilateral derecha del tracto nigroestriatal, con dos categorías: control y lesionada; una variable independiente intragrupal, las poblaciones neuronales, con tres categorías: nigrotalámicas, nigrocolículares y nigropedunculares; dos variables dependientes: el tipo de respuesta, con tres categorías: sin respuesta, excitadora e inhibidora y los parámetros de la actividad basal espontánea, con las siguientes categorías: frecuencia de descarga y CV.

##### **3.2.3.- Material y método**

*Se emplearon 57 ratas Sprague-Dawley (Panlab, Barcelona) machos, adultas de 300 a 350 g de las cuales 37 ratas eran control y 20 lesionadas, mantenidas bajo condiciones estándar de laboratorio y*

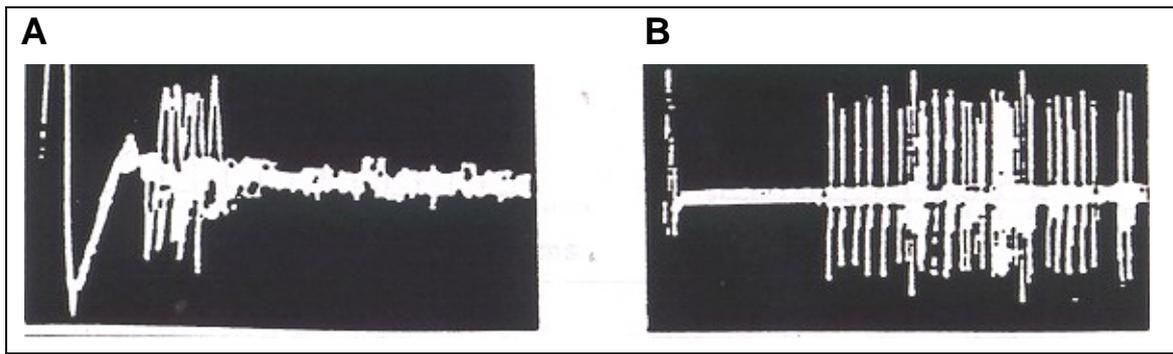
lesionadas mediante procedimiento esterotáxico. Utilizándose la técnica de registro extracelular de la actividad unicelular, para identificar, registrar y procesar la actividad neuronal de la SNR, ya descrita previamente (ver páginas N° 78-81).

Utilizándose la técnica de registro extracelular de la actividad unicelular, para identificar, registrar y procesar la actividad neuronal de la sustancia negra (ver páginas N° 78-81), con el procesamiento computarizado de la actividad eléctrica unicelular a tiempo real, el análisis estadístico y las técnicas histológicas complementarias (ver páginas N° 82-83).

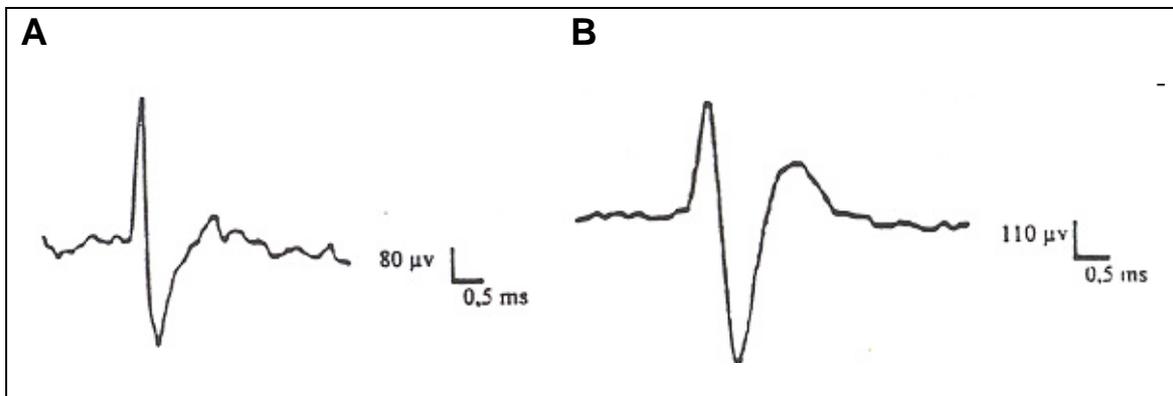
### **3.2.4.- Resultados**

Se registraron 135 neuronas de la SNR, la mayoría de las cuales (70,23%) presentaron alguna respuesta, excitadora o inhibitora, en ambos casos de corta latencia a la estimulación estriatal. En la FÍGURA N° 3 se muestra un ejemplo de la respuesta excitadora (A) y otra inhibitora (B) a la estimulación estriatal. La FÍGURA N° 4, presenta la forma de onda del potencial de acción de una neurona con respuesta excitadora (A) y otra con respuesta inhibitora (B).

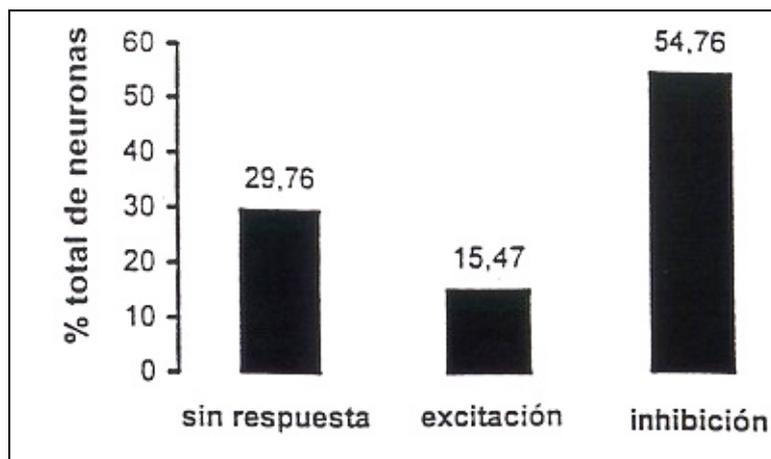
Como se puede apreciar en el GRÁFICO N° 5 (página siguiente), el 54,76% de las neuronas registradas en la SNR de las ratas controles presentaron una respuesta inhibitora, el 15,47% una respuesta excitadora y el 29,76% no respondió. La mayoría de las respuestas excitadoras (77,27%) tenían una latencia inferior a 8 ms. y casi todas las respuestas inhibitoras (96,22%) tenían una latencia inferior 6 ms. (ver GRÁFICO N° 6, página 93). Sin embargo, la media de la respuesta inhibitora tenía una latencia más corta ( $p < 0,001$ ) y de mayor duración ( $p < 0,05$ ) que la media de la respuesta excitadora (ver GRÁFICO N° 7, página 95).



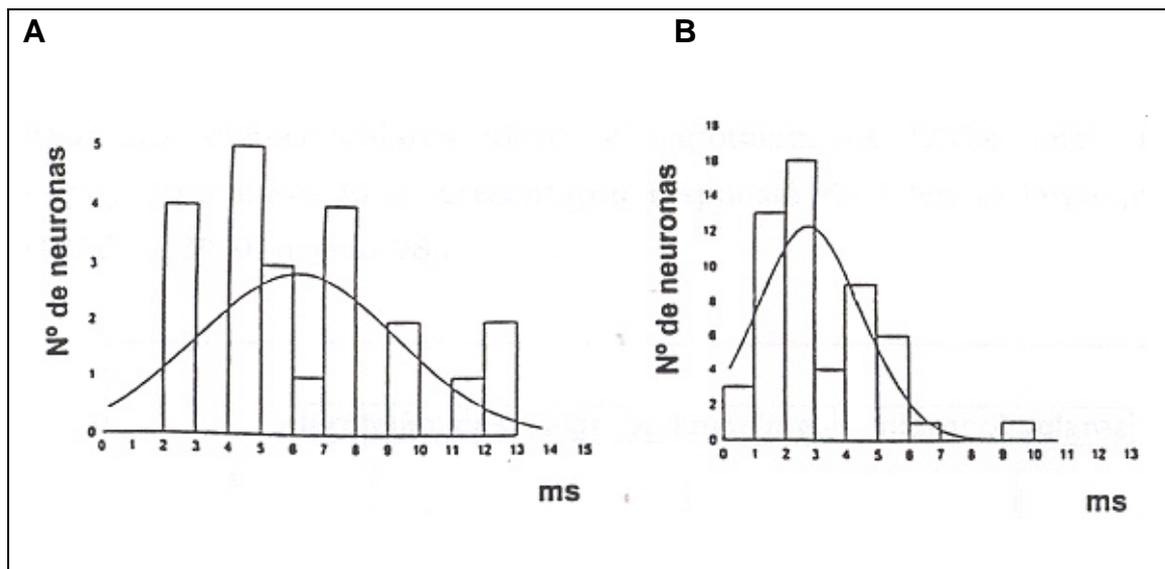
**FÍGURA Nº 3.-** Respuesta excitadoia(A) e inhibidora (B) de corta latencia de neuronas de la SNR a la estimulación estriatal (fotografía de imagen del osciloscopio Van Gogh, EMG-2D).



**FÍGURA Nº 4.-** Forma del potencial de acción de una neurona de la SNR con respuesta excitadora(A) e inhibidora (B) a la estimulación estriatal.



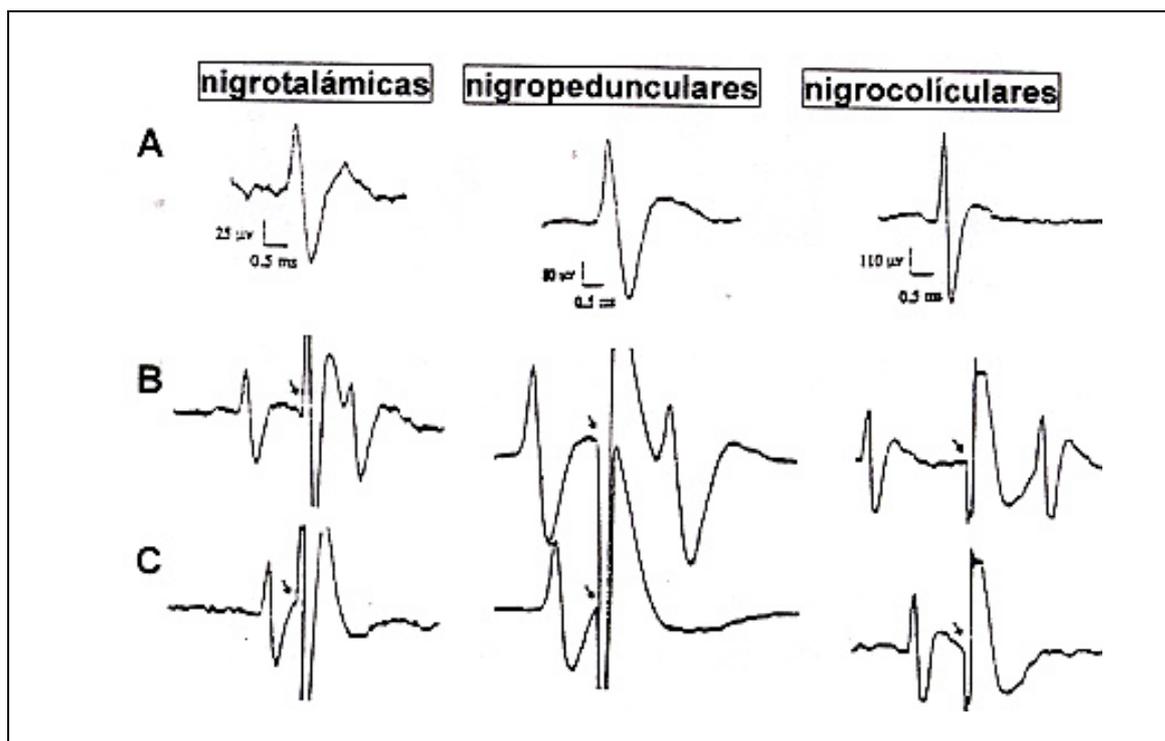
**GRÁFICO Nº 5.-** Distribución porcentual de las neuronas de la SNR, según tipo respuesta a la estimulación estriatal.



**GRÁFICO N° 6.-** Histograma de la distribución de las neuronas de la SNR, según latencia de respuesta excitadora (A) e inhibitora (B) a la estimulación estriatal.

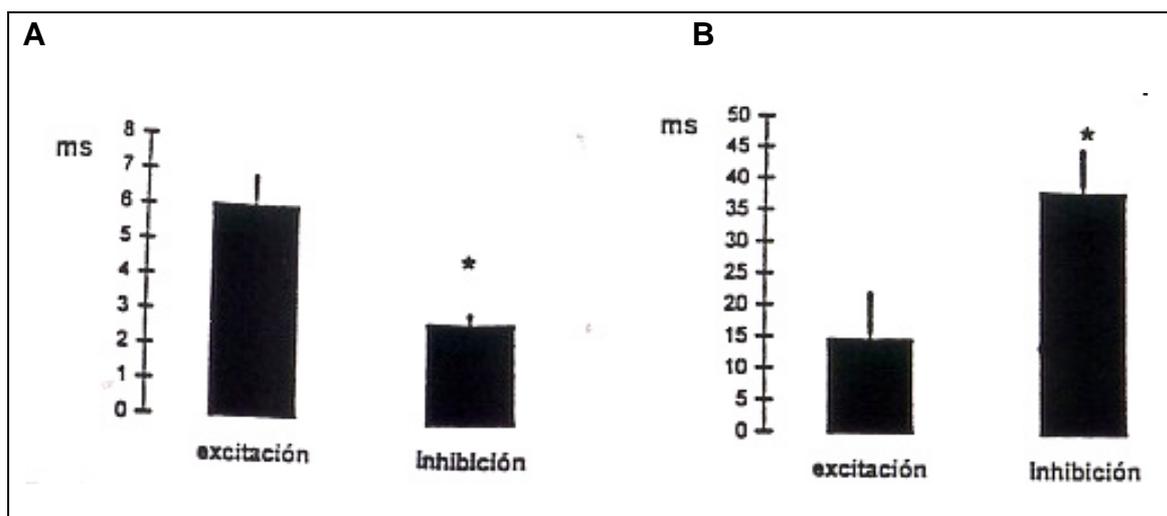
La frecuencia de descarga no presentó diferencias estadísticas entre las neuronas inhibidas, excitadas o sin respuesta a la estimulación estriatal (ANOVA  $f = 0,059$ ;  $p = 0,94$ ) (ver GRÁFICO N° 8, página 95). El CV de variación (ANOVA  $f = 4,48$ ;  $p < 0,05$ ) fue inferior para las neuronas con respuesta inhibitora ( $p < 0,01$ ) o excitadora ( $p < 0,01$ ) que para las sin respuesta

Para comprobar si la respuesta a la estimulación estriatal era similar en las diferentes poblaciones neuronales de la SNR, las neuronas se clasificaron, según su núcleo de proyección mediante la respuesta antidrómica. La FÍGURA N° 5, página siguiente, muestra la forma típica de los potenciales de acción, la respuesta antidrómica y los resultados del test de colisión para los distintos grupos neuronales.

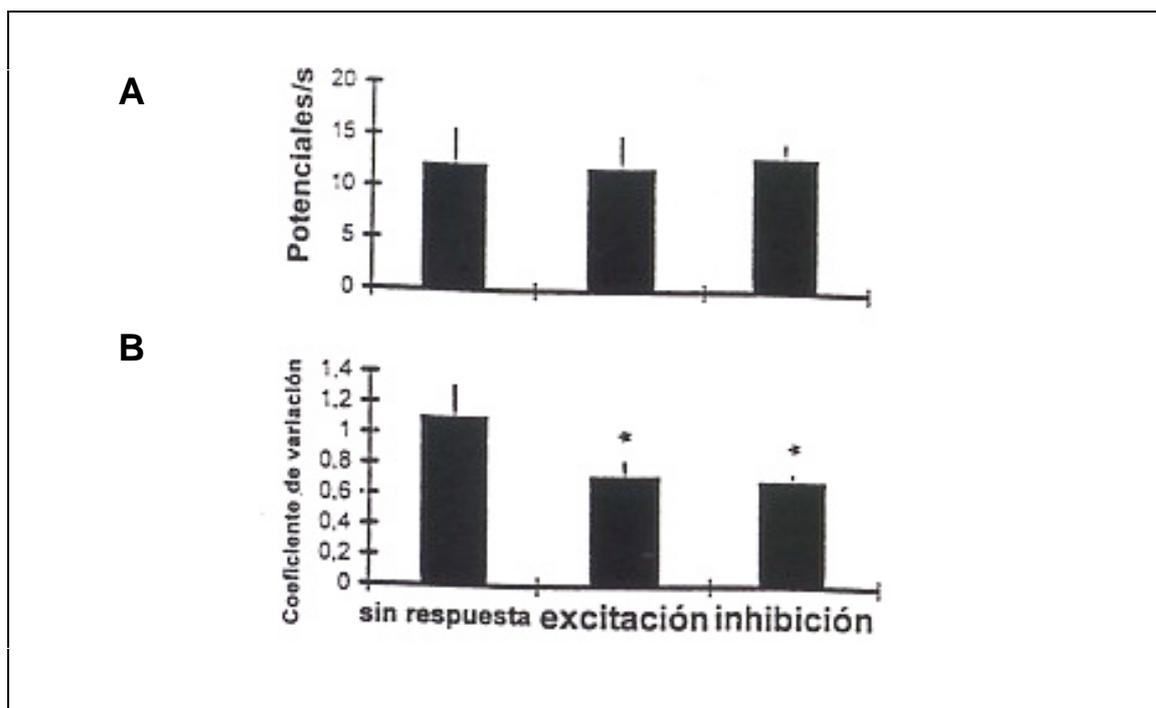


**FIGURA Nº 5.-** Forma del potencial de acción (A) respuesta antidrómica (B) y test de colisión (C) de una neurona nigrotalámica, nigropeduncular y nigrocolícu- lar. La flecha indica el comienzo de la estimulación antidrómica.

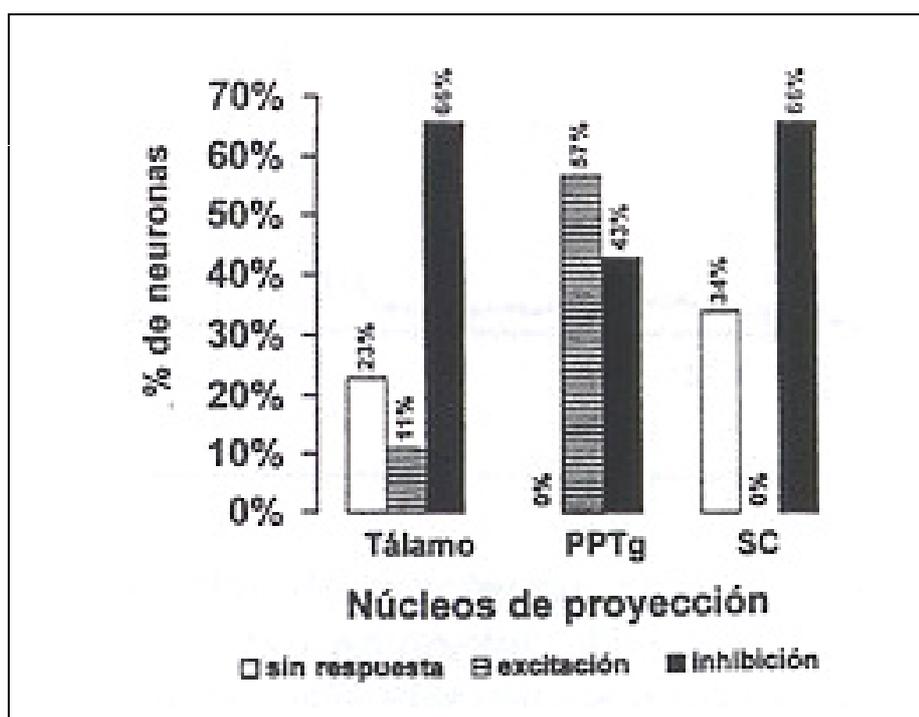
El porcentaje de neuronas para cada modalidad de respuesta fue diferente en los tres tipos de neuronas. La respuesta inhibitoria fue la más frecuente en todas las poblaciones neuronales, predominando en las neuronas nigrocolícu- lares y nigrotalámicas, con un 66% en ambos casos y en las neuronas nigropedunculares en un 43%. Mientras que la respuesta excitadora fue más frecuente en las neuronas nigropedunculares con un 57%, menos frecuente en las nigrotalámicas (11%) y no se encontró en las neuronas nigrocolícu- lares. Algunas neuronas nigrocolícu- lares (34%) y nigrotalámicas (23%), pero no nigropedunculares (0%), presentaron respuesta de latencia larga (ver GRÁFICO Nº 9, página 96).



**GRÁFICO N° 7.-** Distribución de las neuronas de la SNR, según latencia (A) y duración (B) de las respuestas excitadoras e inhibitoras a la estimulación estriatal.

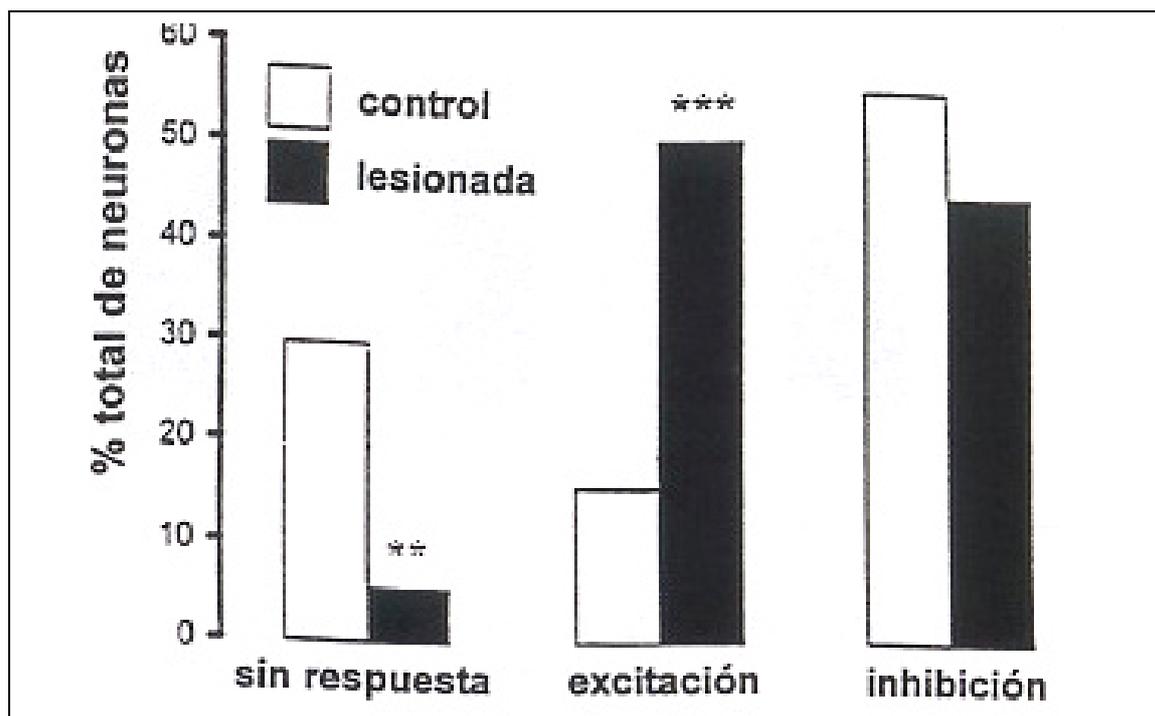


**GRÁFICO N° 8.-** Distribución de la frecuencia de descarga (A) y CV (B) de las neuronas de la SNR, según tipo de respuesta a la estimulación estriatal.



**GRÁFICO N° 9.-** Distribución porcentual de las neuronas de la SNR, según tipo de respuesta a la estimulación estriatal y núcleos de proyección.

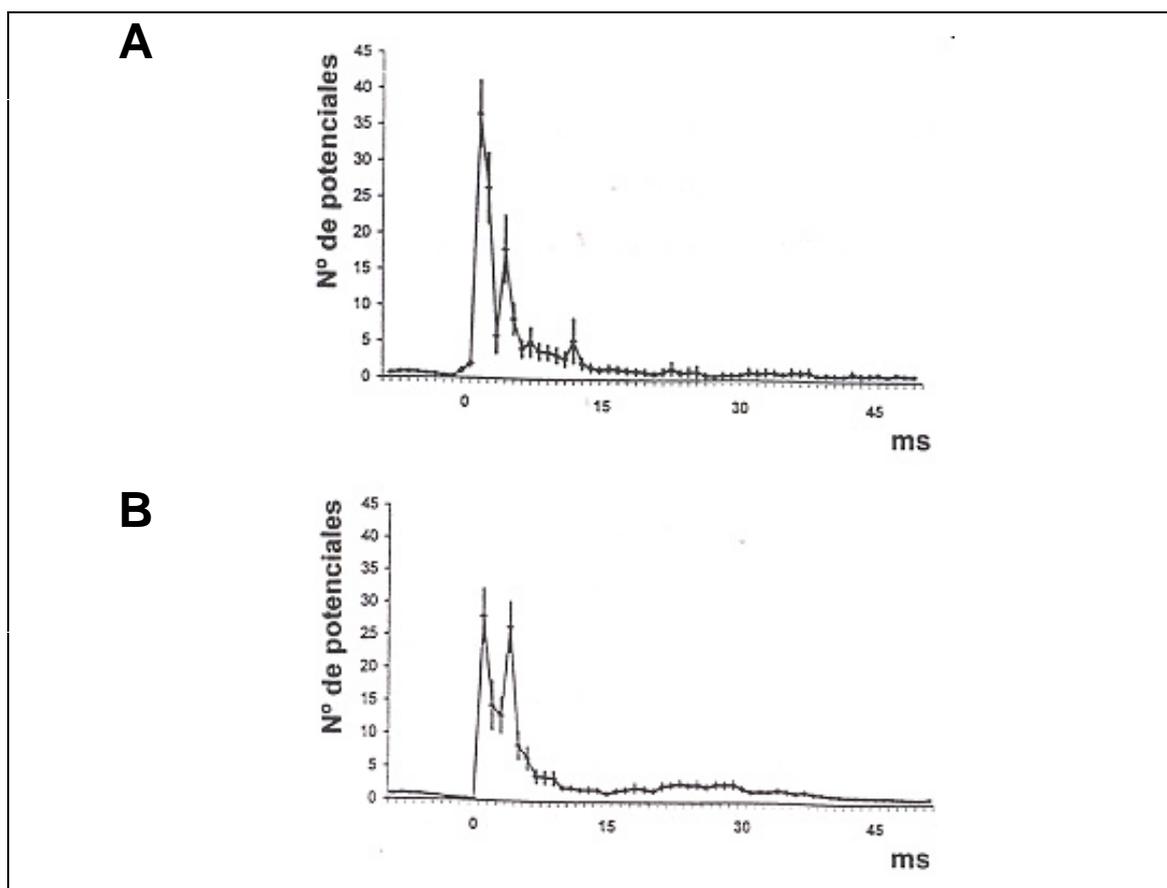
Tras la lesión con 6-OHDA el porcentaje de neuronas con respuesta excitadora aumento ( $p < 0,01$ ) y el de neuronas sin respuesta disminuyó ( $p < 0,05$ ); pero no se encontraron diferencias en las neuronas con respuesta inhibitoria ( $p < 0,57$ ) (ver GRÁFICO N° 10, página siguiente). La lesión tampoco modifica la duración de la excitación (controles con  $14,7 \pm 7,0$  y lesionadas con  $14,7 \pm 4,3$  ms;  $p = 0,99$ ) o de la inhibición (controles con  $38,6 \pm 6,5$  y lesionadas con  $49,6 \pm 4,37$  ms;  $p = 0,07$ ), ni el número total de potenciales por estímulo y tampoco el número de potenciales inducidos durante los primeros 15 ms. de la estimulación estriatal (control con  $71,5 \pm 9,7$  y lesionadas con  $70,1 \pm 6,6$ ;  $p = 0,89$ ) (ver GRÁFICO N° 11, página 98). En cuanto a la actividad basal no se observan cambios en la frecuencia de descarga, pero el CV presenta un significativo aumento (ver GRÁFICO N° 12, página 98).



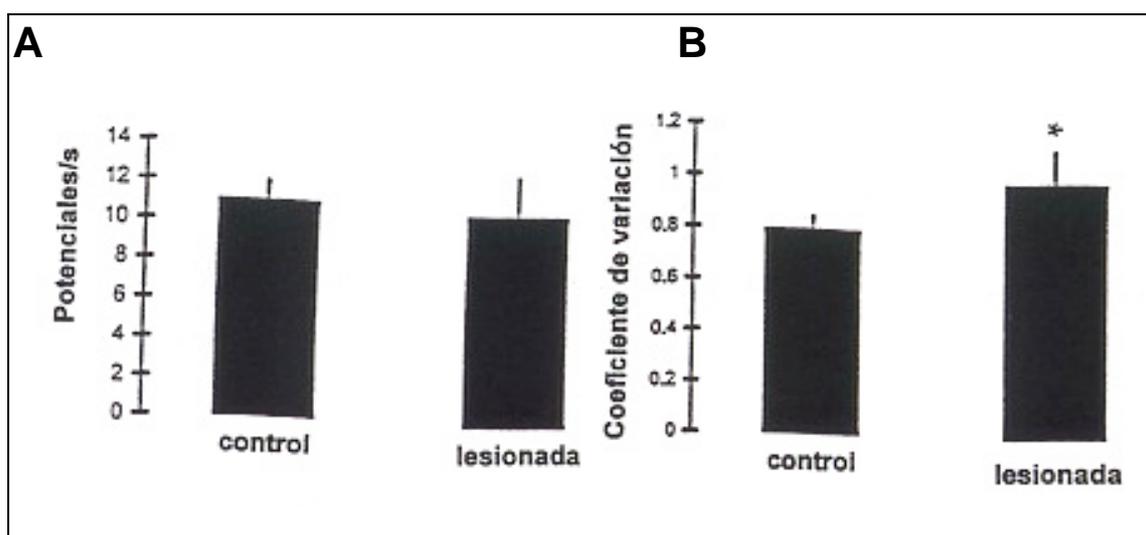
**GRÁFICO N° 10.**-Distribución porcentual de las neuronas de la SNR, según tipo de respuesta y condición experimental.

### 3.2.5.- Discusión

En oposición a la idea previa de una acción exclusivamente inhibitoria del estriado sobre la SNR, se describe una respuesta excitadora, especialmente notable en las neuronas nigropedunculares. En condiciones normales este tipo de respuesta fue escasa (15%); pero tras la lesión de la vía nigroestriatal se produjo un notable incremento de las neuronas de la SNR que presentaban una respuesta excitadora a la estimulación estriatal (15% en las ratas control contra 50% en las ratas lesionadas). Esta respuesta era de corta latencia (< 8 ms), breve duración (cerca de 15 ms) y cumplía todos los criterios de una respuesta ortodrómica. Un tipo de respuesta similar ha sido descrito en estudios previos de la proyección inhibitoria (Collingridge y Davies, 1981; MacLeod, Ryman y Arbuthnott, 1990). Sin embargo, este es el primer trabajo sistemático para evaluar la proyección excitadora estriacional.



**GRÁFICO N° 11.-**Distribución de la potencia de la respuesta excitadora a la estimulación estriatal, según condición experimental: A) controles.y B) lesionadas Cada punto representa la media y el error estándar del histograma de periestímulo de cada respuesta neuronal. Para normalizar los valores del histograma, sólo los 100 primeros estímulos fueron incluidos.



**GRÁFICO N° 12.-**Distribución de la frecuencia de descarga (A) y CV (B) de las neuronas de la SNR, según la condición experimental.

El origen de esta respuesta puede tener diversas explicaciones. En primer lugar, esta excitación podría ser consecuencia de la inhibición estriatal - tras la estimulación de la vía directa - de una interneurona inhibidora de la SNR (Grace y Bunney, 1985). Esta interpretación es concordante con la corta latencia (ver GRÁFICO N° 6). Sin embargo, la duración de la respuesta inhibidora registrada fue tres veces más larga que la excitadora (ver GRÁFICO N° 7), lo que no apoyaría esta idea.

También es posible, que este involucrada la vía indirecta a través de sus tres sinapsis seriadas. La estimulación estriatal podría excitar las neuronas estriopalidales, GABAérgicas, las cuales inhiben a las neuronas del GP, las que a su vez producirían una desinhibición de las neuronas subtalámicas, este aumento de la frecuencia de descarga de las neuronas subtalámicas produciría la respuesta excitadora en las neuronas de la SNR. Esta secuencia de eventos parece poco probable considerando la corta latencia y la breve duración de la mayoría de las respuestas registradas en este y otros estudios (Collingridge y Davies, 1981; MacLeod, Ryman y Arbuthnott, 1990). De este modo, teniendo en cuenta el retardo sináptico (entre 0,5 y 1,5 ms) y el tiempo de conducción desde el estriado hasta la SNR, la latencia de la respuesta excitadora debería ser mayor a 5 o 7 ms, lo cual es superior a la mayoría de las respuestas registradas. Además, la inhibición de las neuronas palidales debería ser muy breve para producir una latencia tan corta y de poca duración en las respuestas encontradas. Es también difícil de creer que en un período tan breve la descarga sincrónica de las neuronas de la SNR pueda ser indirectamente activadas por la desinhibición de las neuronas del GP y STh.

Otra posibilidad, pero menos factible, es que la estimulación estriatal active fibras de proyección cercanas provenientes de otros centros, como el córtex cerebral, por ejemplo. Pero el electrodo de

estimulación fue colocado en el centro del estriado y así a varios mm de cualquier tracto. Además, se emplearon electrodos bipolares, con 1 mm de separación y baja intensidad de estimulación (0,2 a 0,7 mA con 0,3 ms de duración) para minimizar el radio de acción de la corriente (Ranck, 1975; Lemon, 1984). Por último, es teóricamente posible que la estimulación estriatal pudiera producir la liberación de DA dendrítica por activación antidrómica de las neuronas de la SNC, produciendo la excitación de las neuronas de la SNR (Ruffieux y Schultz, 1980). Pero la corta latencia encontrada no apoya esta posibilidad, ya que la latencia de la respuesta antidrómica de las neuronas nigroestriatales es superior 10 ms (Chiodo, 1988).

Todo ello hace suponer que en roedores existe una directa conexión estrionigral con fibras excitadoras. Esta acción podría estar mediada por la liberación desde las neuronas estrionigrales de SP, neurotensina, HT, SK o neurokinina A sobre ambas porciones de la SN (Herrera-Marschitz, et al., 1986; Reid, et al, 1990a; Reid, et al, 1990b). Siendo así posible que una proporción de las fibras estrionigrales sean excitadoras en roedores y tal vez en primates (Hikosaka, Sakamoto y Miyashita, 1993). Pero su importancia funcional es desconocida. Los datos de este estudio sugieren un efecto excitador discriminativo en las diferentes neuronas de proyección de la SNR; ya que una gran proporción (57%) de las neuronas excitadas por la estimulación estriatal proyectan al PPTg pero no al SC (ver GRÁFICO N° 9). Además la constatación de que sólo una pequeña proporción (11%) de las neuronas nigrotalámicas responden con excitación, no debe desestimar su importancia funcional, ya que forman la principal proyección (73%) de salida de la SNR.

Otro aspecto a considerar, es el efecto de la disminución de la DA estriatal, tras la lesión de la SNC y del tracto nigroestriatal, sobre la proporción de neuronas excitadas en la SNR. La proporción de neuronas con respuesta excitadora aumento notablemente (ver

GRÁFICA N° 10), aunque sin cambios en la frecuencia media de descarga, pero el CV fue significativamente mayor indicando una gran variabilidad en el patrón de descarga (ver GRÁFICA N° 12). Estos hallazgos podrían tener algunas implicaciones para el modelo fisopatológico de la PD. En primer lugar, la ausencia significativa de cambios en la media de la frecuencia de descarga de la SNR tras la disminución de la DA parece raro para las predicciones del modelo.

En estudios previos se ha encontrado resultados inconsistentes, una reducción (Arbuthnott, 1974; MacLeod, Ryman y Arbuthnott, 1990; Robledo y Férger, 1992), un aumento (Burbaud, et al, 1995) y ningun cambio (Sanderson, Mavoung, Elbe-Fessard, 1986) en la media de la frecuencia de descarga, sin haber explicaciones para estas discrepancias; sugiriéndose que una diferente valoración de las poblaciones neuronales en cada estudio podría explicarlas (MacLeod, Ryman y Arbuthnott, 1990). Además, se ha encontrado en otros estudios un aumento de la actividad en trenes en las neuronas de la SNR en ratas lesionadas (Sanderson, Mavoung, Elbe-Fessard, 1986; MacLeod, Ryman y Arbuthnott, 1990), pero actualmente no existe un concepto definido para la actividad en trenes en las neuronas de la SNR.

Una forma de obviar diferencias es clasificando las neuronas según el tipo de respuesta (excitadora o inhibidora) a la estimulación estriatal y no en los cambios significativos de su frecuencia de descarga tras la lesión y, por otra parte; empleando el CV para valorar estadísticamente la variabilidad de la descarga neuronal.

El hallazgo de un aumento en el CV que implica una significativa modificación del patrón de descarga es concordante con otros trabajos (Sanderson, Mavoung, Elbe-Fessard, 1986; MacLeod, Ryman y Arbuthnott, 1990). La falta de cambios en la frecuencia media de descarga y el aumento del CV indican que la consecuencia de la degeneración de las neuronas DAérgicas de la SNC sobre las neuronas de la SNR se manifiesta más en

la codificación temporal que en la codificación de la frecuencia. Es decir, la PD puede estar más directamente relacionada con alteraciones temporales de las descargas neuronales que en el número de potenciales por unidad de tiempo.

### **3.3.- Experimento 2:**

**Acción estriatal sobre la actividad electrofisiológica de las neuronas del núcleo mesencefálico profundo.**

#### **3.3.1.- Objetivos:**

- Describir las características electrofisiológicas de las neuronas de la SNC.
- Describir las características electrofisiológicas de las neuronas del DpMe.
- Establecer las principales proyecciones del DpMe.
- Comparar la actividad basal de las neuronas del DpMe en ratas controles y lesionadas.
- Comparar la respuesta de las neuronas del DpMe a la estimulación estriatal en ratas controles y lesionadas.

#### **3.3.2.- Diseño experimental**

Se efectuó un estudio con un diseño experimental factorial 2x4, con dos variables independientes y dos variables dependientes. La variable independiente intergrupala, es la lesión unilateral derecha del tracto nigroestriatal, con dos categorías: control y lesionada, la variable independiente intragrupal, es el grupo neuronal, con cuatro categorías: DAérgicas, nigrotalámicas, nigrocoliculares y nigropedunculares. Las variables dependientes, son: el tipo de respuesta, con tres categorías: sin respuesta, excitadora o inhibidora y los parámetros de la actividad basal espontánea, con las dos categorías: frecuencia de descarga y CV.

#### **3.3.3.- Material y método**

Se emplearon 57 ratas Sprague-Dawley (Panlab, Barcelona) machos, adultas de 300 a 350 g de las cuales 37 ratas eran control y 20 lesionadas, mantenidas bajo condiciones estándar de laboratorio y lesionadas mediante procedimiento esterotáxico. Utilizándose la técnica de registro extracelular de la actividad unicelular, para identificar, registrar y procesar la actividad neuronal de la SNC y del DpMe, ya descrita previamente (ver PÁGINA N°74-78).

Durante las sesiones de registro, se procuro establecer las coordenadas estereotáxicas de al menos una neurona DAérgica nigroestriatal para determinar la profundidad relativa y así poder agrupar las neuronas que se encontraban sobre o debajo de la SNC.

Se calculó la profundidad relativa de las neuronas registradas mediante la siguiente fórmula:

**Profundidad relativa**= (profundidad neurona) - (profundidad neurona DAérgica nigroestriatal)

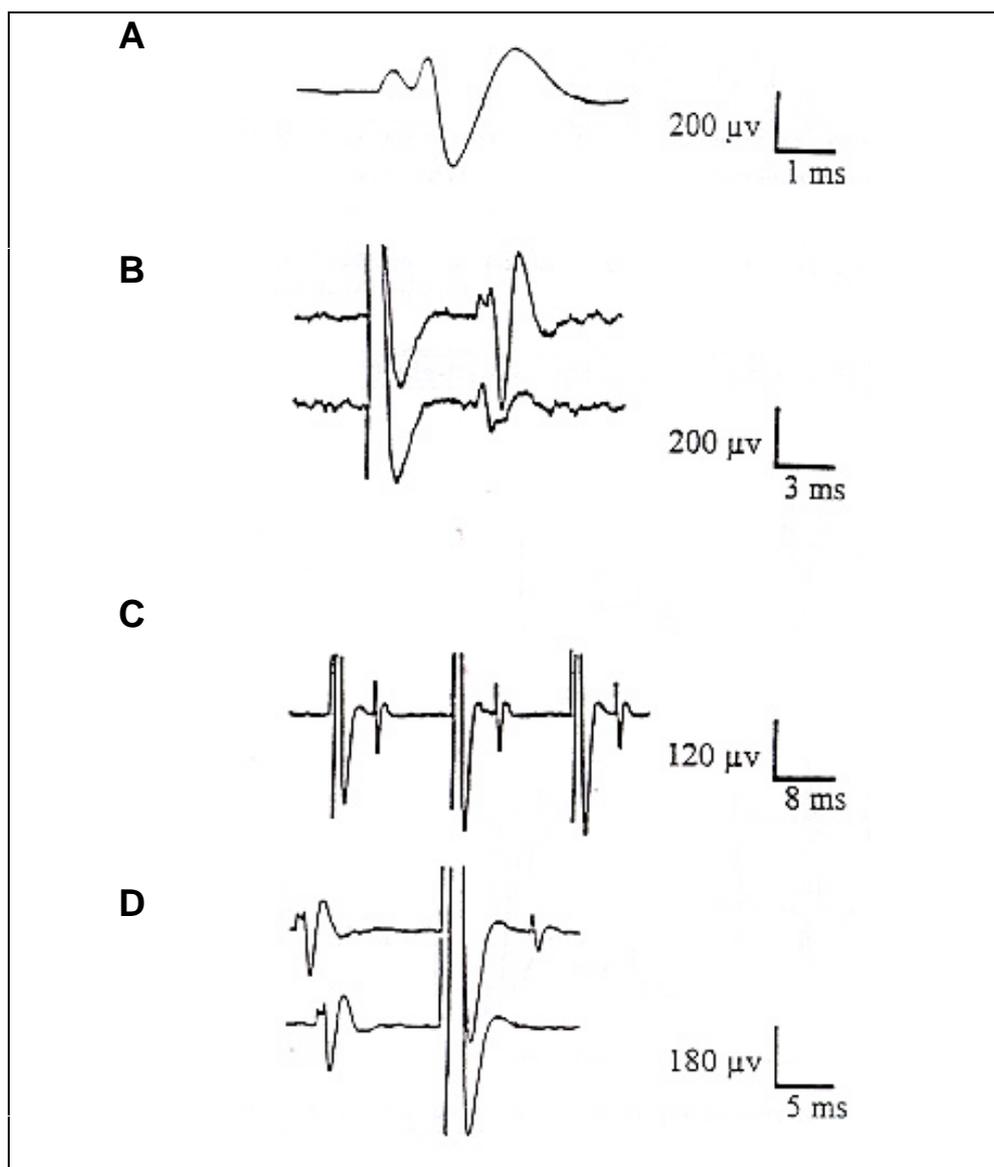
A la profundidad de las neuronas DAérgicas nigroestriatales, se les asignó el valor 0, obteniéndose profundidades relativas con valores negativos para las neuronas situadas sobre las neuronas DAérgicas nigroestriatales (DpMe) y valores positivos para las neuronas de la SNR.

Todas las neuronas registradas en este experimento se encontraron en trayectorias sucesivas desde 1.8 a 3.5 mm en anteroposterior, de 1.5 a 2.2 mm lateral y de 5.1 a 10.1 mm en profundidad. Las neuronas pertenecientes al DpMe se encontraron entre 0.3 y 2.5 mm sobre la SNC. La distancia que separaba a dos neuronas DAérgicas fue siempre inferior a 0.3 mm.

### 3.3.4.- Resultados

Las neuronas DAérgicas de la SNC presentaron un potencial de acción bifásico o trifásico con una duración de 2 a 5 ms y una amplitud de 300 a 1500  $\mu$ v. La primera fase fue positiva y casi siempre mostraron una melladura al comienzo de la fase, que se correspondía con el inicio del segmento somatodendrítico.

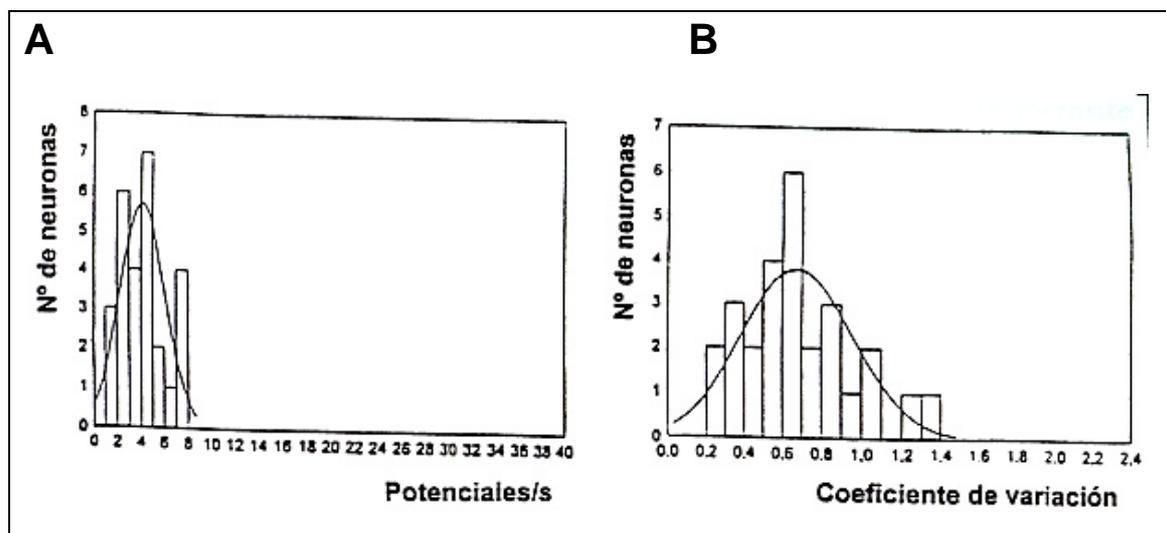
La latencia de la respuesta antidrómica varió entre 9 a 20 ms tras la estimulación estriatal. Frecuentemente, la activación antidrómica produjo sólo la porción inicial del potencial de acción. Los potenciales activados antidrónicamente presentaron durante la estimulación de alta frecuencia un potencial antidrómico por estímulo y también presentaron colisión con potenciales espontáneos (ver FIGURA N° 6).



**FIGURA N° 6.-** Forma del potencial de acción (A), respuesta antidrómica (B), respuesta a la estimulación de alta frecuencia (C) y test de colisión (E) de una neurona DAérgica nigroestriatal.

Como se muestra en el GRÁFICO N° 13 (página siguiente), las neuronas DAérgicas nigroestriatales tuvieron una frecuencia de

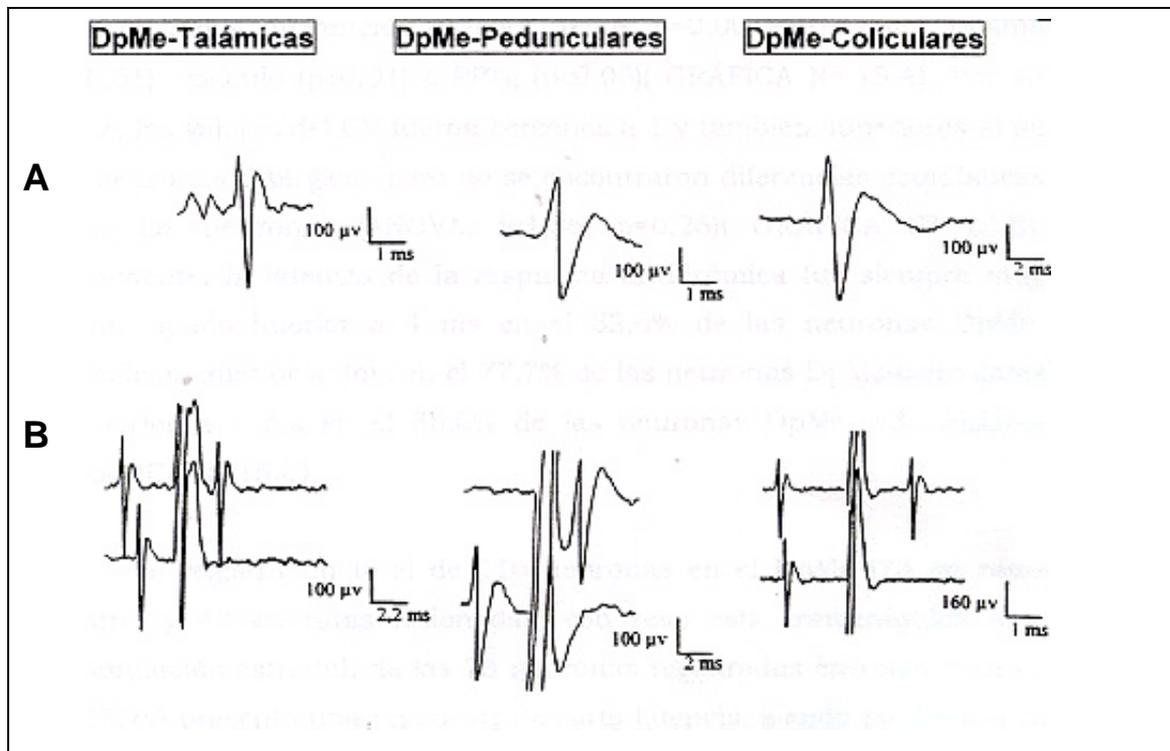
descarga inferior a 10 potenciales/s y la mayoría presentó un CV con una duración del intervalo interpotencial inferior a 1 (que es el valor esperado por azar). De modo que, las características electrofisiológicas de estas neuronas y sus histogramas de frecuencia de descarga fueron similares a aquellos publicados previamente (Chiodo, 1988; Castellano y Rodríguez, 1991; Castellano et al, 1993; Rodríguez y Barroso, 1996). Las neuronas DAérgicas nigroestriatales forman una delgada lámina y cuando fueron registradas 2,8 a 3,4 mm anterior a lambda y 1,8 mm a 2,2 mm lateral a la sutura sagital, la distancia dorsoventral a otra neuronas DAérgicas fue siempre inferior a 300  $\mu\text{m}$ . Sólo las neuronas registradas sobre la lámina de las neuronas DAérgicas fueron incluidas en este estudio. Así, mediante el uso simultáneo de la localización electrofisiológica y la verificación morfológica con la tinción Pontamine sky blue, se comprobó que las neuronas no DAérgicas estudiadas pertenecían al DpMe y no a la SNR.



**GRÁFICO N° 13.-**Distribución de las neuronas DAérgicas nigroestriatales, según frecuencia de descarga y CV.

Las neuronas del DpMe presentaron un potencial de acción bifásico o trifásico, con una duración de 0,5 a 1,5 ms y una amplitud superior a 200  $\mu\text{v}$  (ver FÍGURA N° 7, página siguiente). La frecuencia de descarga tenía un rango de 0,5 a 40 potenciales/s siendo superior al encontrado para las neuronas DAérgicas ( $p < 0,01$ ). A pesar de que una

parte importante de las neuronas del DpMe presentó un CV inferior a 1, fue estadísticamente superior al de las neuronas DAérgicas nigroestriatales ( $p < 0,05$ ) (ver GRÁFICOS N° 14 y 15, página siguiente).



**FÍGURA N° 7.-** Forma del potencial de acción (A) y respuesta antidrómica (B) de diferentes grupos neuronales del DpMe

Una parte de las neuronas del DpMe proyectaban al tálamo (45 neuronas, 61,64%), PPTg (15 neuronas, 20,54%) y SC (9 neuronas, 12,32%). Como se muestra en el GRÁFICO N° 16, página 109, la frecuencia de descarga de las neuronas de proyección del DpMe fue superior a 8 potenciales/s, siendo estadísticamente doblemente superiores a la de las neuronas DAérgicas nigroestriatales ( $p < 0,01$ ), pero no había diferencias (ANOVA,  $f=6,8$ ;  $p=0,001$ ) entre ellas: tálamo ( $p < 0,01$ ), colículo ( $p < 0,01$ ) o PPTg ( $p < 0,05$ ) (GRÁFICO N° 16.A). Por su parte, los valores del CV fueron cercanos a 1 y también superiores al de las neuronas DAérgicas pero no se encontraron diferencias estadísticas entre las neuronas (ANOVA,  $f=1,36$ ;  $p=0,26$ ) (ver GRÁFICO N° 16.B). Finalmente, la latencia de la respuesta antidrómica fue siempre muy corta; siendo inferior a 4 ms en el 82,6% de las neuronas DpMe-

talámicas, inferior a 3ms en el 77,7% de las neuronas DpMe-colículares e inferior a 1 ms en el 86,6% de las neuronas DpMe-pedunculares (GRÁFICO N° 16.C).

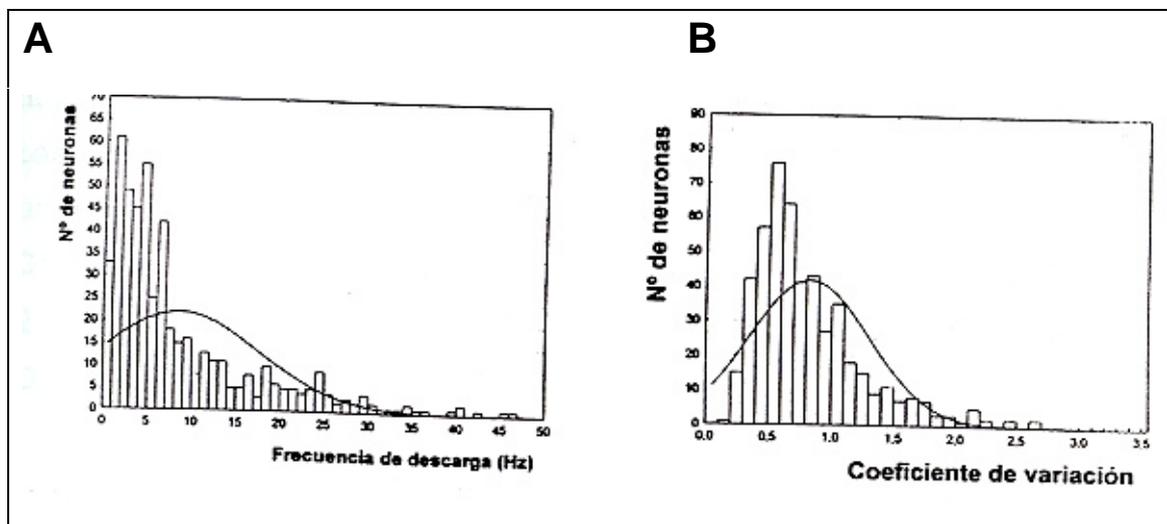


GRÁFICO N° 14.-Distribución de las neuronas del DpMe, según frecuencia de descarga y CV.

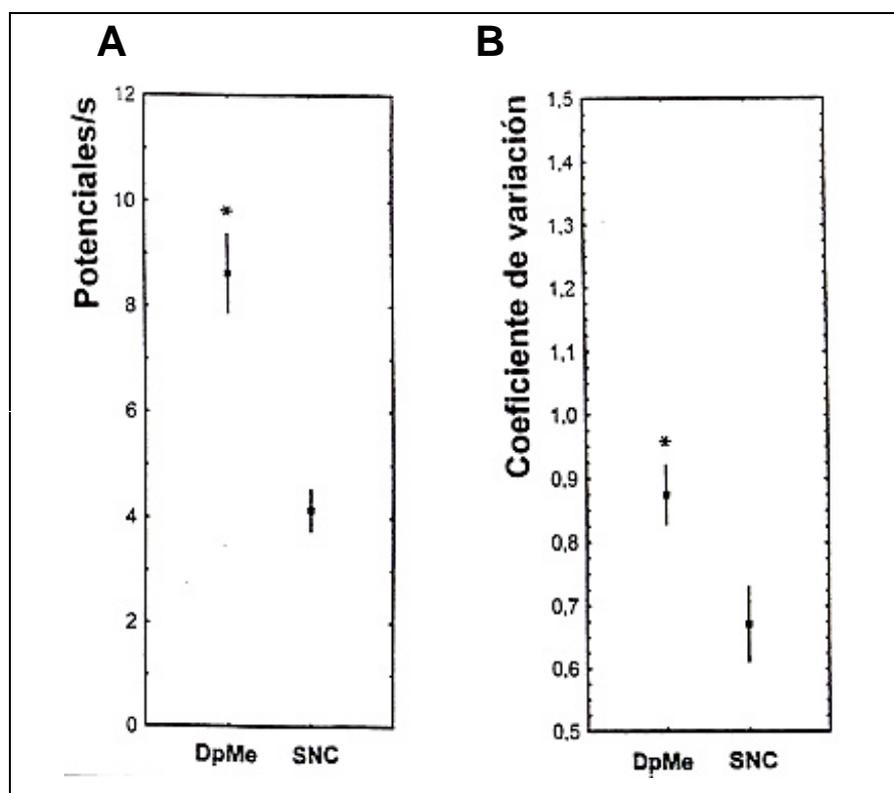
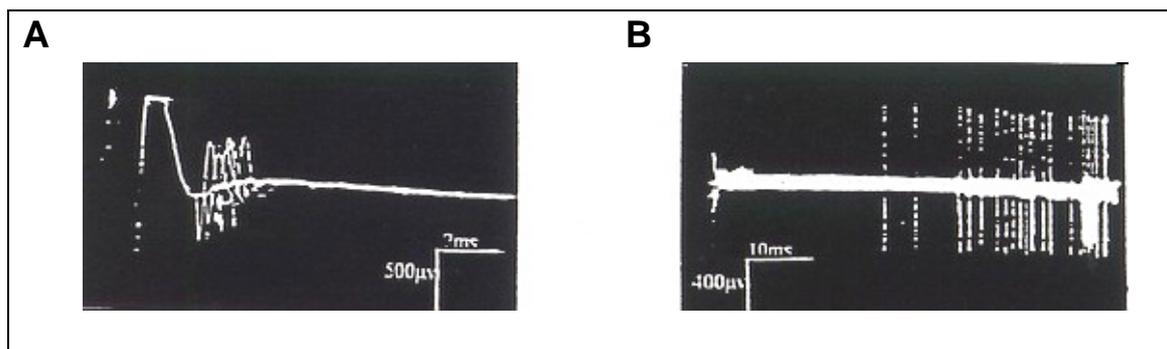
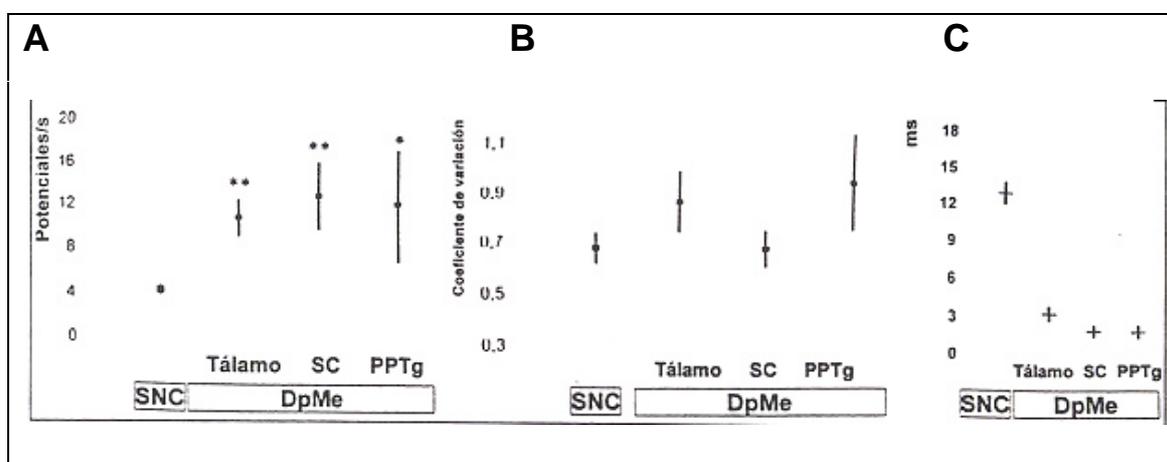


GRÁFICO N° 15.-Distribución de la frecuencia de descarga (A), el CV (B) de las neuronas de la SNC y DpMe.

Se registro un total de 116 neuronas en el DpMe (73 en ratas control y 43 en ratas lesionadas) con respuesta transináptica a la estimulación estriatal, de las 73 neuronas registradas en ratas control, el 65,7% presentó una respuesta de corta latencia, siendo excitadora en 34,2% e inhibitora en 31,50% de los casos (ver FÍGURA N° 8 y GRÁFICO N° 17, página 110).



**FÍGURA N° 8.-** Respuesta excitadora(A) e inhibitora (B) de corta latencia de neuronas del DpMe a la estimulación estriatal (fotografía de imagen del osciloscopio Van Gogh, EMG-2D).



**GRÁFICO N° 16.-** Distribución de la frecuencia de descarga (A), el CV (B) y la latencia de la respuesta antidrómica (C) de las neuronas de la SNC y DpMe, según núcleo de proyección.

La mayoría de las neuronas tenía una respuesta inferior a 3 ms en la inhibición e inferior a 7 ms en la excitación y la duración de la respuesta fue corta para las respuestas excitadoras (en la mayoría de los casos inferior a 6 ms) pero no para las inhibitoras (en todos los casos superior a 9 ms). La latencia no fue estadísticamente significativa

para las respuestas excitadoras e inhibitoras ( $p=0,08$ ), siendo la duración de la respuesta inhibitora superior a la excitadora ( $p<0,0001$ ) (ver GRÁFICOS N° 17 y 18).

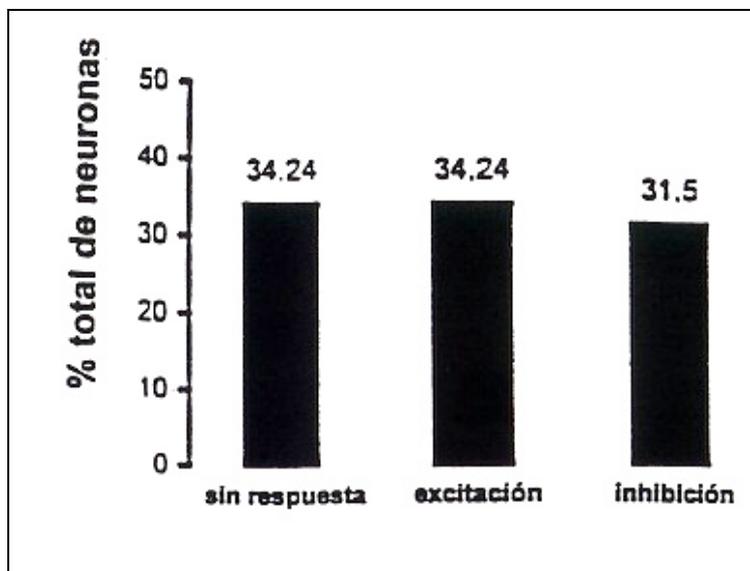


GRÁFICO N° 17.- Distribución porcentual de las neuronas del DpMe en ratas control, según tipo de respuesta a la estimulación estriatal.

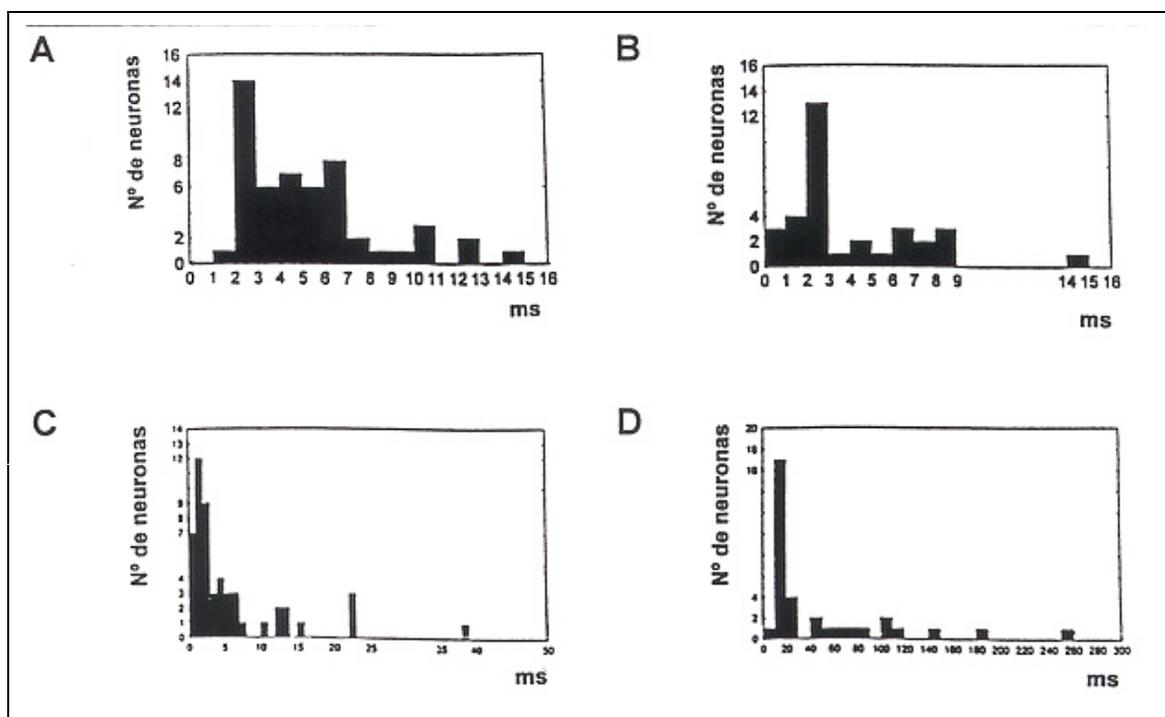
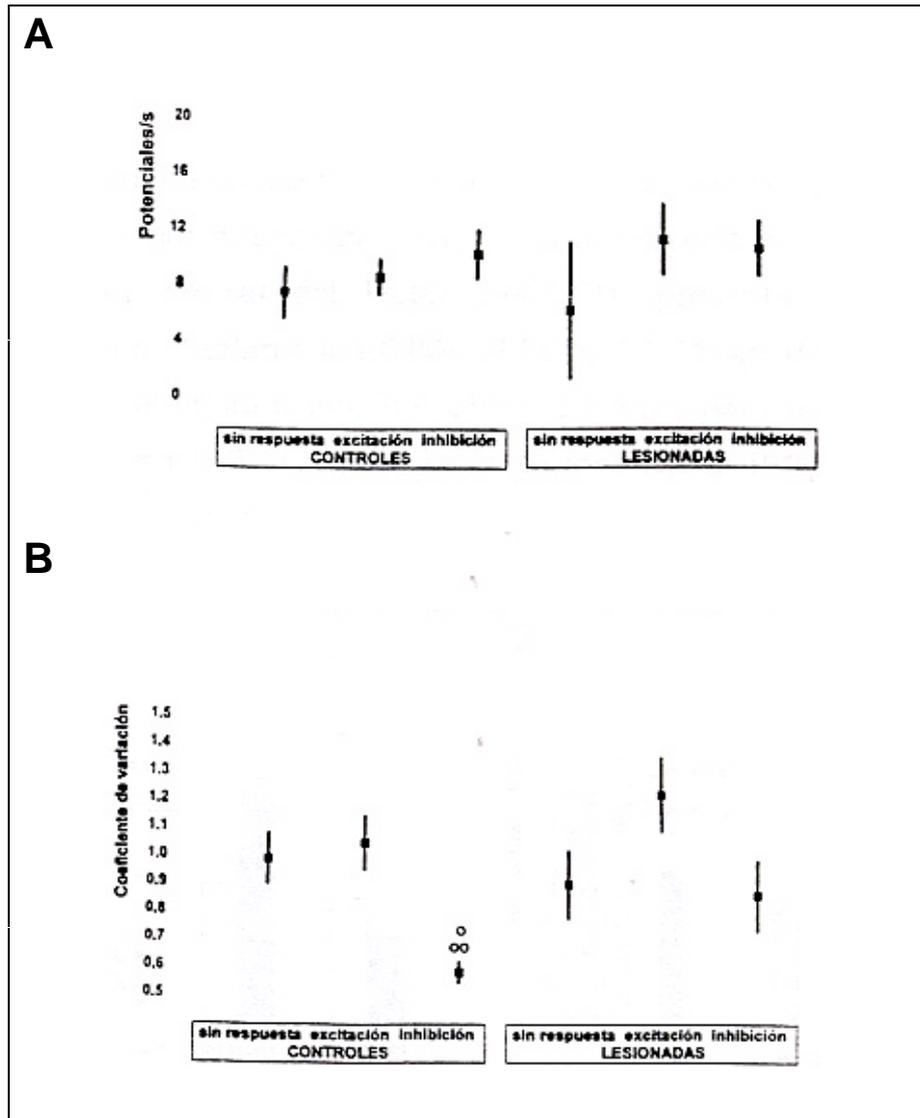
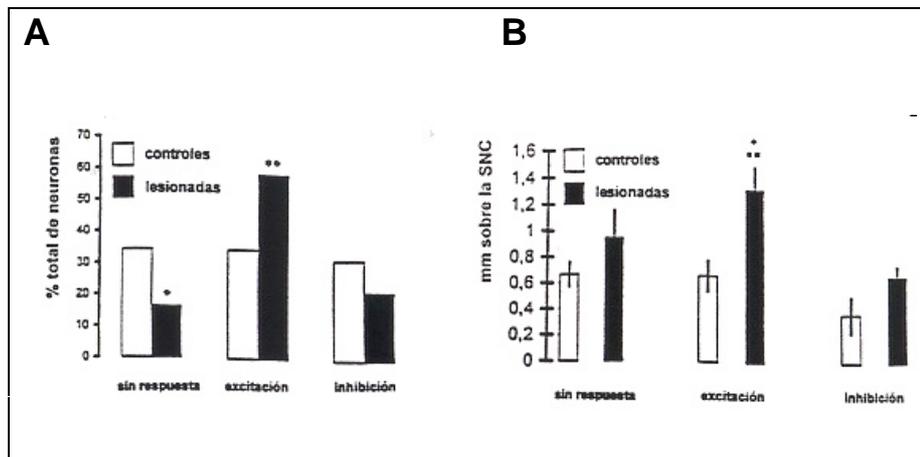


GRÁFICO N° 18.- Histograma de la distribución de las neuronas del DpMe, según latencia de la respuesta excitadora (A) e inhibitora (B) y duración de la respuesta excitadora (C) e inhibitora (D) a la estimulación estriatal.



**GRÁFICO N° 19.-** Distribución de la frecuencia de descarga (A) y del CV (B) de las neuronas del DpMe, según tipo de respuesta y condición experimental.



**GRÁFICO N° 20.-** Distribución porcentual de las neuronas de la DpMe, según tipo de respuesta a la estimulación estriatal y condición experimental (A) y localización del cuerpo neuronal (B).

Para averiguar la acción electrofisiológica del estriado sobre la actividad basal de las neuronas del DpMe, se comparó la frecuencia de descarga y el CV, encontrándose diferencias significativas entre las control y lesionadas en la frecuencia de descarga y mayores aún en el CV; pero, no se encontraron diferencias estadísticas en la frecuencia de descarga entre las neuronas con respuesta excitadora e inhibidora en ratas controles (ANOVA,  $f=1,41$ ;  $p=0,24$ ). Al compararlas con las neuronas que no respondían al estriado (ANOVA,  $f=9,56$ ;  $p<0,001$ ), las neuronas inhibidas ( $p<0,001$ ) pero no las excitadas ( $p=0,56$ ) presentaron un CV inferior. También la lesión ocasiono un aumento de la frecuencia de descarga ( $p<0,05$ ) y el CV ( $p<0,05$ ) y no se encontraron diferencias entre las neuronas con respuesta excitadora, inhibidora o sin respuesta al estriado para la frecuencia de descarga (ANOVA,  $f=0,58$ ;  $p<0,56$ ) y el CV (ANOVA,  $f=2,06$ ;  $p<0,13$ ) (ver GRÁFICO N° 19).

La lesión del tracto nigroestriatal produjo un aumento significativo del porcentaje de neuronas con respuesta excitadora ( $p<0,01$ ) y una disminución del porcentaje de neuronas sin respuesta ( $p<0,05$ ), pero no se encontraron diferencias estadísticas para las neuronas inhibidas ( $p=0,24$ ). Además, las neuronas con respuesta excitadora estaban más superficialmente ( $p<0,01$ ) en ratas lesionadas que en controles, con respecto a la SNC (ver GRÁFICO N° 20).

### **3.3.5.- Discusión**

- Los principales hallazgos de este estudio se pueden resumir en tres ideas principales: Por una parte, la gran mayoría de las neuronas de la porción ventral del DpMe (94,52%), presenta una respuesta antidrómica al tálamo (61,64%), al PPTg (20,54%) o al SC (12,32%); la velocidad de conducción fue rápida 1,5 m/s para las neuronas del DpMe-tálamo; 1,7 m/s para las neuronas DpMe-PPTg y 2,2 para las neuronas del DpMe-SC.

- Por otra parte, la mayoría de las neuronas del DpMe (65,7%) presenta una respuesta ortodrómica al estriado, unas con respuesta excitadora (34,2%) y otras con respuesta inhibitoria (31,5%) ya descrita previamente en otro estudio (Dray et al, 1976); casi todas eran de corta latencia (inferior a 3 ms), actuando probablemente a través de una proyección directa estriio-DpMe, ya que ese intervalo de tiempo es insuficiente para incluir dos sinapsis. Además, la velocidad de conducción de esta vía monosináptica es de aproximadamente 3,5 m/s para la vía inhibitoria y 2,5 m/s para la vía excitadora de esta proyección, velocidad superior a la calculada para la proyección DAérgica nigroestriatal (0,5 m/s) pero similar a la encontrada para la proyección nigroestriatal no-DAérgica (Chiodo et al, 1984). La proyección estriio-DpMe, presenta una acción diferencial sobre los diferentes grupos neuronales del DpMe: el 55% de las neuronas DpMe-tálamo recibían una aferencia excitadora y el 80% de las neuronas DpMe-SC, recibían una aferencia inhibitoria. Esto hace suponer que el DpMe podría ser considerado como una de las eferencias del estriado junto con el EP y la SNR. Además, como el DpMe y la SNR presentan similares aferencias y eferencias y siendo la SNR una de las estaciones de salida de los BG; ambos núcleos parecen jugar un rol similar, enviando información a los mismos núcleos dianas.
- Y por último, la degeneración experimental de las neuronas DAérgicas nigroestriatales, produjo un notable aumento de las neuronas excitadas por la estimulación estriatal, la frecuencia de descarga y el CV de las neuronas registradas, similares a los encontrados para la SNR en el experimento anterior y también descritas por otros autores previamente (Sanderson, et al, 1986; Francois, et al, 1987; Gerfen et al, 1987; Alheid, et al, 1990; Gerfen et al, 1990; Herrero, et al, 1995), lo que hace suponer que estas

modificaciones en el DpMe deberían ser considerados en los mecanismos responsables de los síntomas de la PD.

### **3.4.- Experimento 3:**

#### **Evaluación de la acción del PPTg sobre la actividad electrofisiológica de las neuronas de la SNR y el DpMe en ratas control y lesionadas.**

##### **3.4.1.- Objetivo**

- Comparar la actividad basal de las neuronas del DpMe y la SNR tras la estimulación del PPTg en ratas control y lesionada.
- Evaluar la respuesta de las neuronas de la SNR y el DpMe a la estimulación del PPTg en ratas controles y lesionadas.

##### **3.4.2.- Diseño experimental**

Se efectuó un estudio con un diseño experimental factorial 2x2; con dos variables independientes; la variable independiente intergrupala, es la lesión unilateral derecha del tracto nigroestriatal, con dos categorías: control y lesionada; y la variables independiente intragrupal, que son las agrupaciones neuronales, con dos categorías: DpMe y SNR; las variables dependientes, son dos: el tipo de respuesta, con tres categorías: sin respuesta, excitadora o inhibidora y los parámetros de la actividad basal espontánea, también con dos categorías: frecuencia de descarga y CV.

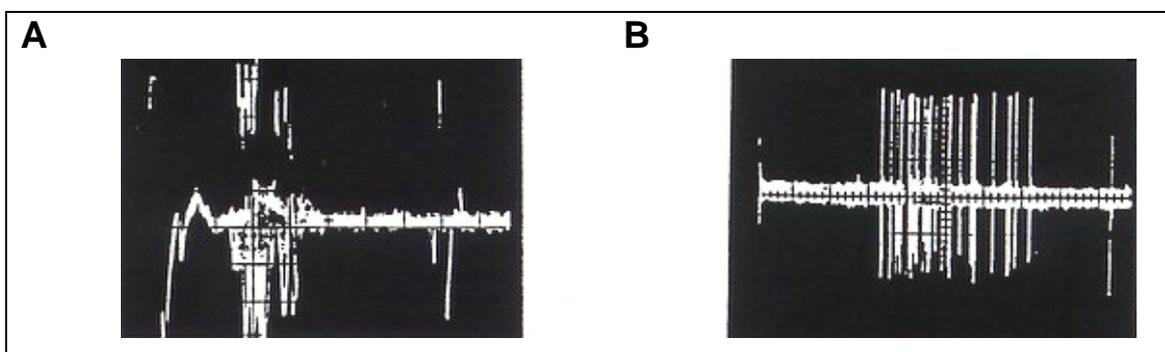
##### **3.4.3.- Material y método**

*Se emplearon 57 ratas Sprague-Dawley (Panlab, Barcelona) machos, adultas de 300 a 350 g de las cuales 37 ratas eran control y 20 lesionadas, mantenidas bajo condiciones estándar de laboratorio y lesionadas mediante procedimiento esterotáxico. Utilizándose la técnica de registro extracelular de la actividad unicelular, para identificar, registrar y procesar la actividad neuronal del DpMe y la SNR, ya descrita previamente en el capítulo de Material y Método (ver*

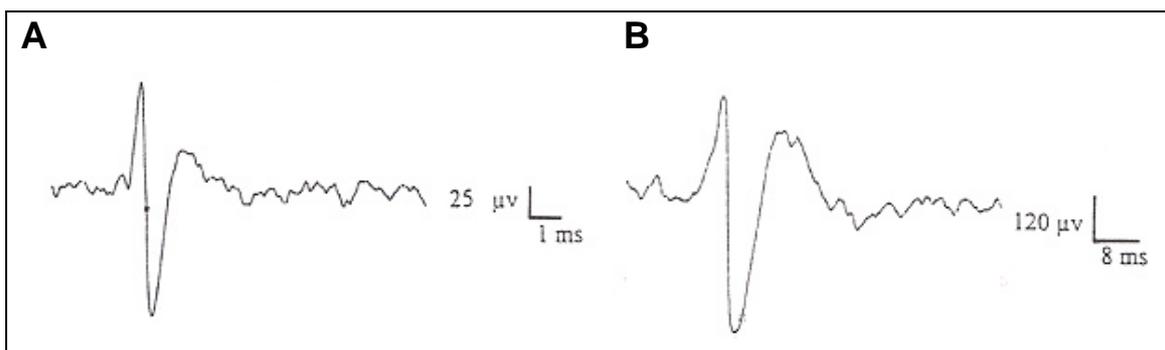
PÁGINAS N° 74-78) como en los experimentos anteriores (ver PÁGINAS N° 93, 105 y 106).

### 3.4.4.- Resultados

En 80 de las neuronas registradas en el DpMe o la SNR se procedió a evaluar las posibles aferencias desde el PPTg. En 51 (63,75%) de estas neuronas se encontró algún tipo de respuesta, de estas el 72,50% era excitadora y el 27,45% inhibitoria (ver FÍGURAS N° 8 y 9).

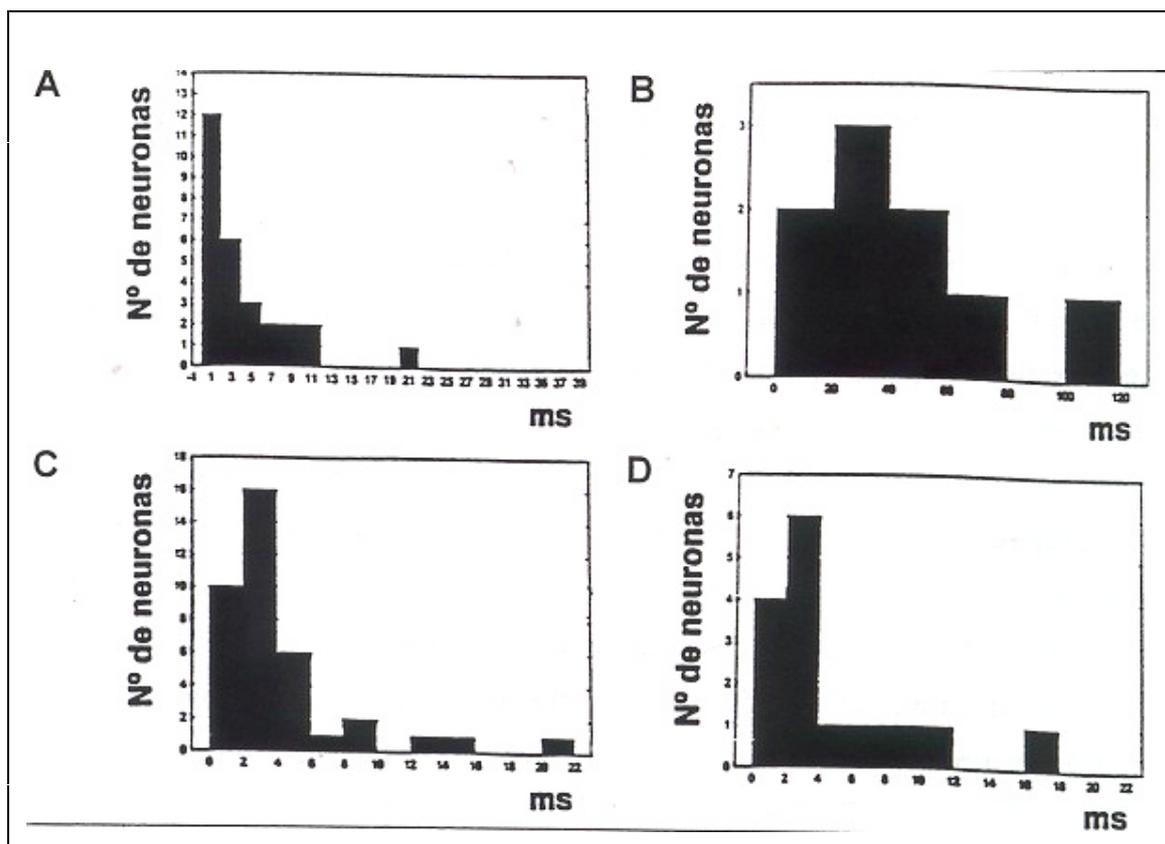


**FÍGURA N° 8.-** Respuesta excitatoria(A) e inhibitoria (B) de corta latencia de neuronas del DpMe a la estimulación estriatal (fotografía de imagen del osciloscopio Van Gogh, EMG-2D).



**FÍGURA N° 9.-** Forma del potencial de acción de una neurona del DpMe con respuesta excitadora(A) e inhibitoria (B) a la estimulación del PPTg.

La latencia fue similar para las respuestas excitadora e inhibitoria, siendo en su mayoría inferior a 5 ms. La duración de la respuesta fue, no obstante, cinco veces mayor en el caso de la respuesta inhibitoria que en la excitadora ( $p < 0,0001$ ) (ver GRÁFICO N° 21).

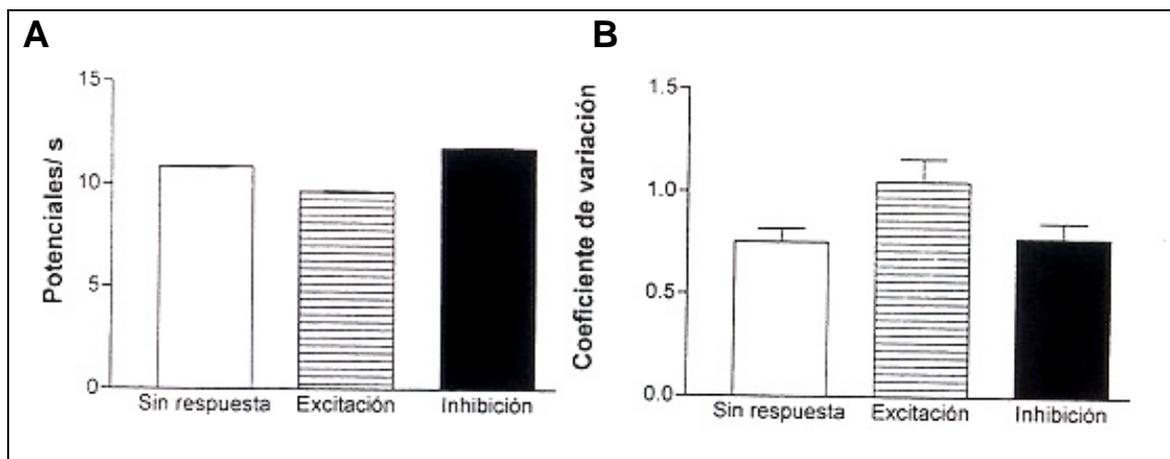


**GRÁFICO N° 21.-** Histograma de la distribución de las neuronas del DpMe y SNR, según latencia de la respuesta excitatoria (A) e inhibitoria (B) y duración de la respuesta excitatoria (C) e inhibitoria (D) a la estimulación estriatal.

La frecuencia de descarga fue similar para las neuronas que presentaron respuesta excitadora, inhibitoria y las que no respondieron (ANOVA,  $f=0,20$ ;  $p=0,81$ ). Los patrones de disparo fueron diferentes en los tres grupos (ANOVA,  $f=3,20$ ;  $p<0,05$ ). Las neuronas con respuesta excitadora presentaron un CV más elevado que las sin respuesta ( $p<0,05$ ) y no se observaron diferencias significativas para el CV entre las neuronas con respuesta inhibitoria y las que no respondían (ver GRÁFICO N° 22).

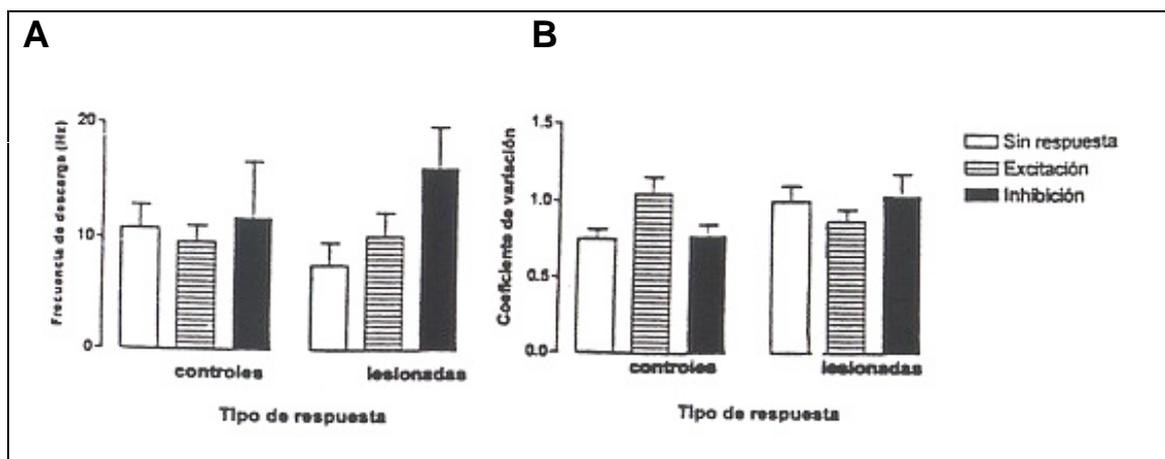
A continuación, se clasificaron las neuronas de las ratas controles y lesionadas según su tipo de respuesta a la estimulación desde el PPTg; para la frecuencia de descarga no se observaron diferencias significativas entre el grupo con lesión y el grupo sin lesión, tampoco en las neuronas que no respondieron ( $t=1,13$ ;  $p=0,27$ ), ni entre las que

respondieron con excitación ( $t=-0,21$ ;  $p=0,83$ ) o con inhibición ( $t=0,75$ ;  $p=0,45$ ). En el caso del CV, no se observaron diferencias entre ambos grupos experimentales en las neuronas que respondían con excitación ( $t=1,21$ ;  $p=0,22$ ) o con inhibición ( $t=-1,49$ ;  $p=0,14$ ). En las neuronas que no respondían al PPTg, el CV fue ligeramente mayor en el grupo lesionadas que en el grupo control ( $t=-2,17$ ;  $p<0,05$ ), (ver GRÁFICO N° 23, página siguiente).



**GRÁFICO N° 22.-** Distribución de la frecuencia de descarga (A) y CV (B) de las neuronas del DpMe o la SNR, según tipo respuesta a la estimulación del PPTg.

En la TABLA N° 2, se muestra el porcentaje de neuronas que responden a la estimulación del PPTg en los grupos control y lesionada, al hacer un contraste de estos porcentajes no se observan diferencias significativas en el porcentaje de neuronas con respuesta al PPTg ( $p>0,05$ ). En la TABLA N° 3, se muestra para el subgrupo de neuronas con respuesta al PPTg, aquellas con respuesta excitatoria con las de respuesta inhibitoria. En ambos grupos experimentales la proporción de neuronas con respuesta excitatoria fue mayor, no apreciándose diferencias para esta variable entre el grupo control y el lesionado ( $p=0,13$ ).



**GRÁFICO N° 23.-** Distribución de la frecuencia de descarga (A) y CV (B) de las neuronas del DpMe o la SNR, según condición experimental y tipo de respuesta a la estimulación del PPTg.

**TABLA N° 2.-** Distribución de las neuronas estudiadas según grupo experimental

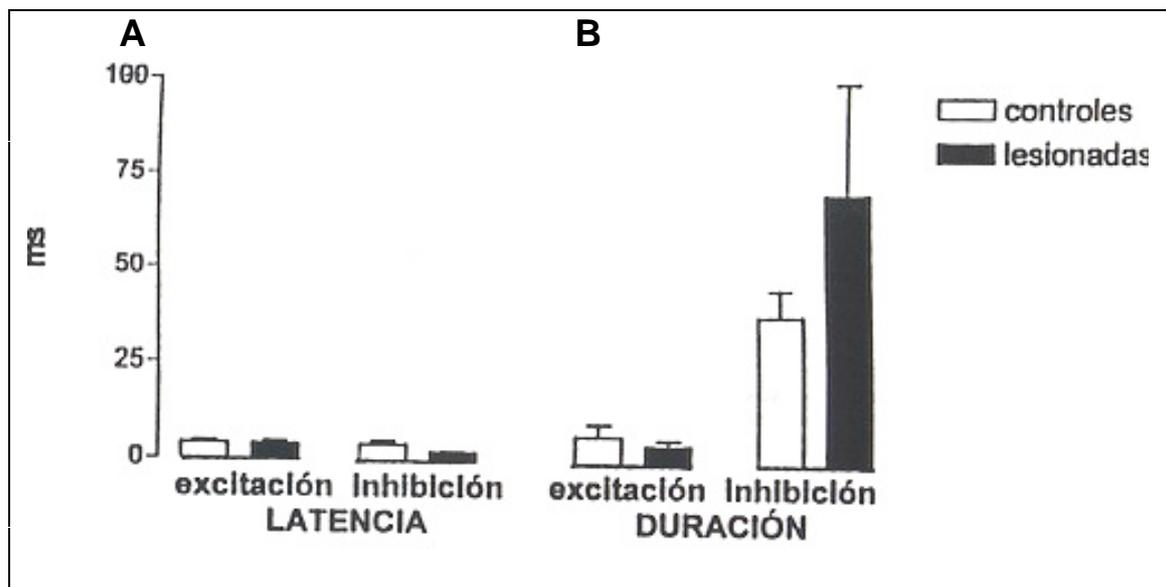
GRUPO EXPERIMENTAL	sin respuesta	con respuesta	TOTAL
Control	29 (36,25%)	51 (63,75%)	80 (100%)
Lesionada	23 (35,38%)	42 (64,61%)	65 (99,99%)

**TABLA N° 3.-** Distribución de las neuronas estudiadas según tipo de respuesta

GRUPO EXPERIMENTAL	excitadora	inhibidora	TOTAL
Control	37 (72,59%)	14 (27,45%)	51 (100,04%)
Lesionada	24 (57,14%)	18 (42,85%)	42 (99,99%)

Finalmente, se evaluó la latencia y la duración de las respuestas excitadora e inhibidora en los grupos control y lesionada; la latencia de la respuesta excitadora ( $t= 0,0001$ ;  $p=0,99$ ) e inhibidora ( $t=1,72$ ;  $p=0,99$ ) fue similar en ambos grupos experimentales. Tampoco se apreciaron diferencias para la duración de la respuesta excitadora ( $t=0,53$ ;  $p=0,59$ ) o de la respuesta inhibidora ( $t=-1,29$ ;  $p=0,20$ ). (ver GRÁFICO N° 24, página siguiente).

## Discusión



**GRÁFICO N° 24.-** Distribución neuronal de la latencia (A) y duración (B), según tipo respuesta y condición experimental a la estimulación del PPTg.

La mayoría de las neuronas del DpMe y la SNR (63,75%) presento una respuesta ortodrómica al PPTg, principalmente excitadora (72,5%) aunque también inhibitoria (27,4%), en ambos casos de corta latencia, siendo en consecuencia una proyección directa o monosináptica. Estos resultados revelan que la proyección pedunculonigral, colinérgica y GLUTérgica ya descrita, presenta un componente inhibitorio y que además de la SNC, también alcanza hasta la SNR y al DpMe.

Tras la degeneración experimental de las neuronas DAérgicas nigroestriatales, no se observó un aumento en la proporción de neuronas excitadas en ratas lesionadas, ni diferencias significativas en la frecuencia de descarga o el CV entre las neuronas controles y lesionadas. Estos antecedentes evidencian que a pesar de las recíprocas conexiones del PPTg con varios núcleos de los BN no tiene un papel principal en la fisiopatología de la PD.

**Capítulo 4**  
**Comentario final**

## **4.- COMENTARIO FINAL**

### **4.1.- Un componente excitador para la proyección estriónigral.**

El modelo actualmente vigente sobre la organización funcional de los BG consta de varios circuitos paralelos, anatómica y fisiológicamente separados, uno de ellos, el "circuito motor" explica satisfactoriamente y de forma simplista las principales manifestaciones patológicas de los BN, como los signos cardinales de la PD y además es capaz de predecir el resultado de las distintas intervenciones terapéuticas, tales como la palidotomía posteroventral y la microestimulación del STh.

El circuito motor esta organizado somatotópicamente y se inicia en las áreas 6, 4 y 3 del córtex motor suplementario que se proyectan al putamen dorsolateral, desde donde alcanzan hasta el GPi/EP y la SNR mediante dos vías estriopalidales; una "vía directa" que surge desde una población de neuronas espinosas medianas, GABAérgicas que se proyectan sobre el GPi/EP y la SNR, y la "vía indirecta" que se origina de otra población de neuronas espinosas medianas también GABAérgicas que proyectan hacia el GPe/GP, desde el cual otras neuronas GABAérgicas proyectan al STh, en el cual neuronas GLUtérgicas se proyectan sobre el GPi/EP y la SNR.

El modelo considera en la organización normal del movimiento un equilibrio funcional entre ambos circuitos, las descargas de las neuronas putaminales de la "vía indirecta" producen la excitación de los núcleos de salida de los BG (GPi/EP y SNR) y con ello la motilidad, suprimiendo los movimientos indeseados; mientras que la activación de la "vía directa" tendría el efecto opuesto, la inhibición del movimiento por reducción de la actividad de la proyección talámocortical y facilitando movimientos específicos. De acuerdo con este modelo a la vía estriónigral le corresponde un papel exclusivamente inhibitor, hay

evidencias experimentales y clínicas de que en la PD la proyección STh-GPi de la "vía indirecta" esta hiperactiva, siendo responsable de los signos cardinales de la PD, el estado funcional de la "vía directa" esta menos estudiado. En ratas con lesión de la proyección nigroestriatal con 6-OHDA se ha demostrado un reducción en la expresión del mRNA de la SP, DYN y de los receptores D1 sugiriendo que las neuronas GABAérgicas estriatales están hipoactivas en la PD (Gerfen et al, 1990).

Sin embargo, los datos presentados en el experimento N° 1, junto a otros estudios morfológicos previos apoyan la idea de que un componente excitador debería ser también incluido en la "vía directa".

El modelo de organización funcional de los BG asume que la frecuencia de descarga es el único parámetro subyacente en el procesamiento de la información (Fetz, 1997). Los resultados antes comentados indican que las neuronas de la SNR responden a la deplección de la DA estriatal con cambios en la codificación temporal. Es decir, que la PD esta más directamente relacionada con alteraciones en el patrón de la actividad neuronal más que en el número de potenciales por unidad de tiempo. Esta idea nos permite explicar algunas observaciones discrepantes en monos tratados con MPTP, en los cuales un notable aumento de la frecuencia de descarga neuronal en el STh y GPi no siempre es acompañada por un parkinsonismo severo (Filion, Tremblay y Bédard, 1991). El aumento de la respuesta excitadora en la SNR tras la deplección de DA puede ser importante para la PD, un aumento en el porcentaje de neuronas que responden con excitación a una estimulación periférica de los miembros en el GPi de monos parkinsonianos, al igual que en el STh y GPi de pacientes parkinsonianos operados (Rodríguez, et al, 1997; Jankovic, Hamilton y Crossman, 1997). El aumento de la descarga neuronal en las estaciones de salida de los BN debería producir una inhibición fásica mediada por GABA en los núcleos motores del tálamo y tronco del encéfalo. Esta respuesta puede ser importante en la ejecución de los movimientos

secuenciales y repetitivos y, estar implicada en los episodios del bloqueo motor activados por estímulos externos en los pacientes parkinsonianos. El papel de la SNR en la fisiopatología de la PD ha sido poco estudiado. Los datos analizados sugieren un posible mecanismo consistente en cambios fásicos en la frecuencia neuronal en la SNR más que en una elevación de una frecuencia en el STh o GPi.

#### **4.2.- El DpMe como centro de salida de los núcleos basales.**

Considerando el modelo de organización mediolateral del DpMe previamente descrito (ver página 43-46), en la que se puede distinguir: 1) una región lateral del DpMe, recíprocamente conectada con núcleos de los BN: enviando proyecciones al tálamo, STh, EP GP y, a su vez, recibiendo proyecciones desde el córtex motor y sensitivomotriz, el EP, la SNR, y el SC; y 2) la región medial del DpMe interconectada con diversos núcleos del tronco del encéfalo. También teniendo presente las dificultades para inyectar trazadores neuronales en el DpMe que no afecten a la SN subyacente y especialmente las masivas proyecciones desde el estriado; el estudio de las aferencias al DpMe ha sido difícil. Sin embargo, algunos trabajos usando trazadores anterogrados han evidenciado que las proyecciones que inervan la SNR y el EP provenientes del estriado, también inervan el DpMe (Fallon, et al,1985; Fallon y Loughlin, 1985; Hay-Schmidt y Mikkelsen,1992).

Un estudio electrofisiológico previo corrobora estos estudios morfológicos señalando que la estimulación del núcleo caudado inhibe las neuronas del DpMe (Dray et al, 1976). Los datos presentados aquí lo confirman y amplían, destacando una respuesta excitadora de corta latencia en más del 30% de las neuronas. Esta corta latencia, que en muchos casos era inferior a 3 ms., sugiere que la estimulación estriatal es transmitida por una vía directa monosináptica. La velocidad de conducción, considerando las coordenadas estereotáxicas de estimulación y registro fue similar a la de las neuronas no DAérgicas-

nigroestriatales. Lo que permite suponer que esta proyección pertenece a las vías monosinápticas de salida de los BN, que ya no sólo inervarían el EP y la SNR, sino también el DpMe.

Al igual que la SNR, las neuronas de la DpMe reciben una proyección desde el estriado y se proyectan al tálamo, SC y PPTg (McNair et al, 1972; Faull y Mehler, 1978; Beckstead, et al, 1979; Beckstead, et al, 1981; Gerfen et al, 1982; Parent y Hazrati, 1995) encontrándose una acción diferencial del estriado sobre estos grupos neuronales; el 55% de las neuronas que proyectan al tálamo reciben aferencias excitadoras desde el estriado y el 80% de las neuronas que proyectan al colículo reciben aferencias estriatales inhibitorias. De esta manera y al igual que la SNR, el DpMe también transfiere información desde el estriado como estos dos núcleos de salida de los BN.

Estudios morfológicos previos han descrito las proyecciones desde el DpMe hacia el tálamo (Edwards y Olmos, 1976; Veazey y Severin, 1980a; Veazey y Severin, 1980b), SC (Edwards, 1975; Edwards y Olmos, 1976) y PPTg (Edley y Graybiel, 1983; Steininger et al, 1992). Este estudio electrofisiológico las confirma y además indica que la mayoría de las neuronas están bajo control estriatal.

Estos datos muestran que la degeneración de las neuronas DAérgicas nigroestriatales produce un aumento de la actividad basal de las neuronas de la DpMe de la misma manera como se ha informado previamente para las neuronas de la SNR y el EP; y además, un aumento de las respuestas excitadoras al estriado.

En resumen, el presente estudio y otros previos apoyan la idea de que junto con el EP y la SNR, el DpMe debería ser considerado como una de las estaciones de salida de los BN.

A lo largo de esta memoria se ha registrado un elevado número de neuronas pertenecientes al DpMe, SNC y SNR. A su vez, en estas neuronas se han identificado subgrupos que proyectan al tálamo, SC y PPTg. Este estudio aporta una gran cantidad de datos parte de los cuales son analizados y presentados en esta memoria. De forma resumida, estos resultados suponen una evidencia experimental que apoya la idea de que dos nuevos componentes deberían ser añadidos a las rutas de salida de la información desde los BN. Esto es, el componente excitador de la vía directa por un lado y el DpMe como centro a añadir a la SNR y EP. En el primer caso, se aportan evidencias sobre su posible implicación en la fisiopatología de la PD ya que la degeneración de la proyección Daérgica nigroestriatal induce una marcada modificación de la proyección estrionigral excitadora. En el segundo caso, también se aportan evidencias experimentales de que el DpMe podría estar implicado en la PD. Quedando para el futuro próximo el análisis de otros resultados de estos experimentos que por la necesidad de concluir esta memoria dentro de los límites impuestos por la beca que me ha permitido su realización no han sido incluidos aquí. Además, y como natural proyección de estos trabajos, se abordará próximamente la descripción morfológica y neuroquímica tanto de la proyección estrionigral excitadora como de las proyecciones del DpMe hacia el tálamo, SC y PPTg (Rodríguez, Abdala y Obeso, 2000; Rodríguez, et al, 2001). Quizás con posterioridad se intente profundizar en el papel funcional de estas rutas durante la elaboración extrapiramidal del movimiento; para ello se necesitaran de procedimientos experimentales ya disponibles en nuestro Laboratorio, basado en el registro de la actividad unitaria en monos despiertos y durante la elaboración y ejecución de tareas motoras.

## **Conclusiones**

## 5.- CONCLUSIONES

Como resumen de los principales hallazgos en los experimentos descritos y analizados en esta tesis, se puede concluir que:

1. Se registraron 629 neuronas pertenecientes al DpMe, SNC y SNR, que fueron clasificadas según sus eferencias en: neuronas que proyectan al estriado (63%), al tálamo (20%), al PPTg (7%) y al SC (4%). En su conjunto todas estas neuronas de proyección presentaron una frecuencia de descarga espontánea superior a la observada en las neuronas DAérgicas nigroestriatales. Las neuronas pedunculares y talámicas también mostraron un CV superior al de estas neuronas DAérgicas. Las neuronas no-DAérgicas registradas en el DpMe presentaron una frecuencia de descarga inferior y un CV superior al de las neuronas no-DAérgicas de la SNR. Por tanto, se observaron notables diferencias electrofisiológicas entre las distintas subpoblaciones neuronales estudiadas, no sólo en la localización del soma neuronal sino también en su lugar de proyección.
2. Tras la estimulación estriatal se observaron dos modalidades de respuesta en las neuronas de la SNR, una respuesta inhibitoria en el 54% y una respuesta excitadora en el 15% de los casos. La respuesta inhibitoria fue particularmente frecuente en las neuronas nigrotalámicas (66%) y nigrocolícuales (66%), siendo la respuesta excitadora más frecuente en las neuronas nigropedunculares (57%). En todos los casos se trataba de una respuesta de latencia corta y generalmente inferior a los 6 ms, resultando la duración de la respuesta inhibitoria tres veces superior a la excitadora. Estos datos muestran que la vía directa está integrada no solo por la proyección GABAérgica inhibitoria previamente conocida sino también por una proyección excitadora cuyo neurotransmisor queda por estudiar.
3. La degeneración experimental del sistema DAérgico nigroestriatal desencadenó un marcado incremento del porcentaje de neuronas de la SNR que respondían con una excitación a la estimulación estriatal. Si bien este aumento se acompañó de un aumento en la frecuencia de descarga. También se produjo un aumento del CV de los intervalos interpotenciales. Estos resultados sugieren que tras la disfunción DAérgica nigroestriatal se produce una marcada facilitación de la proyección estriatonigral excitadora, circunstancia que podría estar implicada en la fisiopatología de la PD.

4. Mediante el test de colisión se identificaron neuronas del DpMe con proyección al tálamo (61%), PPTg (20%) y SC (12%). La frecuencia de descarga de estas tres poblaciones fue superior al de las neuronas DAérgicas nigroestriatales, no observándose diferencias en el CV del intervalo interpotenciales.
5. Las neuronas del DpMe presentaron tras la estimulación del estriado una respuesta excitadora en el 34% de los casos y una inhibitora en el 31%. En su inmensa mayoría eran respuesta de latencia corta (menor a 5 ms) y de naturaleza transináptica. Resultados que podrían estar mediados por una proyección directa desde el estriado. Por lo tanto, el DpMe podría ser considerado como un nuevo centro de salida de la información desde los BG, que junto con la SNR y el EP recibirían entradas excitadores e inhibidores desde el estriado transmitiendo la información hacia el tálamo, PPTg y SC.
6. El porcentaje de neuronas del DpMe que presentaron una respuesta excitadora tras la estimulación del estriado se incremento tras la degeneración del sistema DAérgico nigroestriatal. Estas neuronas se encontraron en las regiones más dorsales del DpMe y por tanto más alejadas de la SNC. La lesión tambien desencadeno un incremento significativo de la frecuencia de descarga y el CV de las neuronas del DpMe. Tomados en su conjunto estos resultados sugieren que el DpMe tambien podría estar implicado en la fisiopatología de la PD.
7. Tras la estimulación del PPTg se observo una respuesta transináptica en la SNR o DpMe en un 63% de las neuronas. De las neuronas con respuesta, el 72% presento una respuesta excitadora y el 28% una respuesta inhibitora. En todos los casos se trataba de una respuesta de latencia corta generalmente inferior a 4 ms y que supone una respuesta ortodrómica mediada por una sola sinapsis. Estos datos sugieren que junto a la proyección GLUtérgica pedunculopontinonigral previamente descrita existe una proyección excitadora desde el PPTg al DpMe asi como una proyección inhibitora desde el PPTg tanto a la SNR como al DpMe.
8. La degeneración experimental del sistema DAérgico nigroestriatal no modifico las características ni la actividad basal de las neuronas que recibían las aferencias desde el PPTg ni su respuesta a la estimulación desde el PPTg. Estos resultados sugieren que las

proyecciones que alcanzan la SNR o el DpMe desde el PPTg no tienen un papel fisiopatológico directo en los trastornos funcionales de la PD.

## **Bibliografia**

## 6.-REFERENCIAS

1. ALBIN, R. L.; YOUNG, A. B. y PENNEY, J. B. (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 12(10):366-375.
2. ALEXANDER, G. E. Y CRUTCHER, M. D.(1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends in Neurosc* 13 (7):266-271.
3. ALHEID, G. F.; HEIMER, L y SWITZER, R. C. (1990) Basal ganglia. En G. Paxinos (ed.) The human nervous system. Academic Press, San Diego, 483-582.
4. ANDERSEN, P. y LUNDBERG, A. (1997) John C. Eccles (1903-1997) *Trends Neurosci* 20 (8):324-325.
5. ANDERSON, M. y YOSHIDA, M. (1977) Electrophysiological evidence for branching nigral projections to the thalamus and the superior colliculus. *Brain Res.*137: 361-364.
6. ARBUTHNOTT, G. W. (1974) Spontaneous activity of spontaneous units in the striatum after unilateral destruction of the dopamine input. *J. Physiol.* 239: 121-122.
7. BERGMAN, H.; FEINGOLD, A; NINI, A.; RAZ, A; SLOVIN, H.; ABELES, M. y VAADIA, E. (1998) Physiological aspects of information processing in the basal ganglia of normal and parkinsonian primates.*Trends Neurosci* 21(1):32-38.
8. BEVAN, M. D. y BOLAM, J. P. (1995) Cholinergic, GABAergic, and glutamate-enriched inputs from the mesopontine tegmentum to the subthalamic nucleus in the rat. *J Neurosci* 15(11):7105-7120.
9. BECKSTEAD, R. M.; DOMESICK, V. B. y NAUTA, W. J. H. (1979) Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain Res.* 175: 191-217.
10. BECKSTEAD, R. M.; EDWARDS, S. B. y FRANKFURTER, A. (1981) A comparison of the intranigral distribution of nigrothalamic neurons labeled with horseradish peroxidase in the monkey, cat and rat. *J Neurosci.* 1: 121-125.
11. 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 Pharmacol Exp Ther* 185(3):560-571.
12. CARLSSON, A. (1987) Monoamines of the central nervous system: A historical perspective. En H. Y. Meltzer (ed.). *Psychopharmacology: The third generation of progress*, Raven Press, N. York, 39-48.
13. CARPENTER, M. B. (1981) Anatomy of the corpus striatum and brain stem integrating systems. En V. B Brooks (ed.). *Handbook of Physiology. Vol 2. Part 2.* American Physiological Society, Bethesda, 947-995.
14. CASTELLANO, M. A. (1991) Caracterización electrofisiológica de los sistemas dopaminérgicos nigroestriales: asimetría cerebral e interdependencia funcional. Tesis Doctoral, Univ. de La Laguna, 241.
15. CASTELLANO, M. A. y RODRÍGUEZ, M. (1991) nigrostriatal dopaminergic cell activity is under control by substantia nigra of the contralateral brain side: electrophysiological evidence. *Brain res. Bull.* 27: 213-218.

16. CASTELLANO, M. A.; RIVERO, F. L. y RODRÍGUEZ, M. (1993) Spontaneous firing of nigrostriatal dopaminergic neurons in split-brain rat. *Neurosc Lett.* 162: 1-4.
17. CHEVALIER, G.; DENIAU, J. M.; THIERRY, A. M. y FÉGER, J. (1981) The nigro-tectal pathway. An electrophysiological reinvestigation in the rat. *Brain Res.* 213: 253-263.
18. CHIODO, L. A.; BANNON, M. J.; GRACE, A. A.; ROTH, R. H. y BUNNEY, B. S. (1984) Evidence for the absence of impulse-regulating somatodendritic and synthesis-modulating nerve terminal autoreceptors on subpopulations of midbrain dopamine neurons. *Neuroscience* 12:1-16.
19. CHIODO, L. A. (1988) Dopamine-containing neurons in the mammalian central nervous system: electrophysiology and pharmacology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 12: 49-91.
20. COLLINGRIDGE, G. L. y DAVIES, J. (1981) The influence of striatal stimulation and putative neurotransmitters on identified neurons in the rat substantia nigra. *Brain Res.* 212: 345- 359.
21. CONDE, H. (1992) Organization and physiology of the substantia nigra. *Exp. Brain Res.* 88: 233-248.
22. CONSEJO DE EUROPA (1986) Convenio europeo para la protección de animales vertebrados utilizados en la experimentación y otros fines científicos. N° 609. Estrasburgo. 24 de noviembre de 1986.-
23. CREESE, I. (1982) Dopamine receptors explained. *Trends in Neurosc.* 5 (2 ):40-43.
24. DAMAS, M. C. (1995) Influencias ipsilaterales y contralaterales del núcleo tegmental pedunculopontino sobre la actividad electrofisiológica de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales. Tesis Doctoral, Univ. de La Laguna, 218.
25. De LONG, M. R.; CRUTCHER, M. D. y GEORGOPOULOS, A. P. (1983) Relations between movement and single cell discharge in the substantia nigra of the behaving monkey. *J. Neurosc.* 3: 1599-1606.
26. De LONG, M. R. y GEORGOPOULUS, A. P. (1981) Motor functions of the basal ganglia. En V. B Brooks (ed.). *Handbook of Physiology.* Vol 2. Part 2. American Physiological Society, Bethesda, 1017-1061.
27. DENIAU, J. M.; HAMMOND, C.; RISZK, A. y FEGER, J.(1978) Electrophysiological properties of identified output neurons of the rat substantia nigra (pars compacta and pars reticular): evidence for the existence of branched neurons. *Exp. Brain Res.* 32: 409-422.
28. DENIAU, J. M.; KITAI, S.T.; DONOGHUE, J. P.; GROFOVA, I. (1982) Neuronal interactions in the substantia nigra pars reticulata through axon collaterals of the projections neurons. *Exp.Brain Res.* 47: 105-113.
29. DENIAU, J. M. y CHEVALIER, G.(1992) The lamellar organization of the rat substantia nigra pars reticulata: distribution of projection neurons. *Neuroscience* 46 (2):361-377.
30. DENIAU, J. M.;MENETREY, A. y THIERRY, A.M. (1994) Indirect nucleus accumbens input to the prefrontal cortex via the substantia nigra pars reticulata: a combined anatomical and electrophysiological study in the rat. *Neuroscience* 61(3): 533-545.
31. DENIAU y THIERRY, (1997) Anatomical segregation of information processing in the rat substantia nigra pars reticulata. *Adv Neurol* 74: 83-96.
32. DIAZ, M. D. (1984) Actividad de los inhibidores de la recaptación de dopamina sobre los efectos terapéuticos de la L-dopa en parkinsonismo experimental inducido a ratas. Tesis Licenciatura, Univ. de La Laguna, 163.

- 
33. DICHIARA, G.; OLIANAS, M.; DEL FIACO, M.; SPANO, P.F.; TAGLIAMONTE, A. (1977) Intranigral kainic acid is evidence that nigral non dopaminergic neurones control posture. *Nature (Lond.)* 268: 743-745.
  34. DONOVICK, P.J. (1974) A metachromatic stain for neural tissue. *Stain technology* 49:49-51.
  35. DRAY, A.; GOYNE, T. J. y OAKEY, N. R. (1976) Caudate stimulation and substantia nigra activity in the rat. *J Physiol.* 259: 825-849.
  36. EDLEY, S. M. y GRAYBIEL, A. M. (1983) The afferent and efferent connections of the feline nucleus tegmenti pedunculopontinus, pars compacta. *J Comp Neurol.* 217: 187-215.
  37. EDWARDS, S. B. (1975) Autoradiographic studies of the projections of the midbrain reticular formation: descending projections of nucleus cuneiformis. *J Comp Neurol* 161: 341-358.
  38. EDWARDS, S. B. y OLMOS, J. S. (1976) Autoradiographic studies of the projections of the midbrain reticular formation: ascending projections of nucleus cuneiformis. *J Comp Neurol* 165: 417-432.
  39. FALLON, J. H.; LESLIE, F. M. y CONE, R. I. (1985) Dynorphin-containing pathways in the substantia nigra and ventral tegmentum: A double labeling study using combined immunofluorescence and retrograde tracing. *Neuropeptides* 5: 457-460.
  40. FALLON, J. H. y LOUGHLIN, S. E. (1985) Substantia nigra. En G. Paxinos (ed.) *The rat nervous system*. Vol. 1 Academic Press, Sydney, 353-374.
  41. FAULL, R. L. M. y MEHLER, W. R. (1978) The cells of origin of nigroreticular, nigrothalamic and nigrostriatal projections in the rat. *Neuroscience* 3: 989-1002.
  42. FAULL, R. L. M. y CARMAN, J. B. (1968) Ascending projections of the substantia nigra in the rat. *J. Comp. Neurol.* 132: 73-92.
  43. FÉGER, J.; HASSANI, O-K y MOUROUX, M. (1997) The subthalamic nucleus and its connections. New electrophysiological and pharmacological data. *Adv Neurol* 74: 31-43.
  44. FRANCOIS, C.; YELNIK, J. y PERCHERON, G. (1987) Golgi study of the primate substantia nigra. II.- Spatial organization of dendritic arborizations in relation to the cytoarchitecture boundaries and to the striatopallidal bundle. *J. Comp Neurol.* 265: 473-493.
  45. FETZ, E. E. (1997) Temporal coding in neural population? *Science* 278: 1901-1902.
  46. FILION, M.; TREMBLAY, L. y BÉDARD, P. J. (1991) Effects of dopamine agonists on the spontaneous activity of globus pallidus neurons in monkey with MPTP-induced parkinsonism. *Brain Res.* 547: 152-161.
  47. FUXE, K.; HÖKFELT, T.; AGNATI, L. F.; JOHANSON O.; GOLDSTEIN, M.; PEREZ, M.; POSSANI, L.; TAPIA, R.; TERAN, L. y PALACIOS R. (1982) Cartografía de las neuronas centrales dotadas de catecolaminas: estudios inmunohistoquímicos con enzimas sintetizadoras. En M. A. Lipton, A. Mascio y K. F. Killian (eds.) *Psicofarmacología; a los treinta años de progreso*. Espaxs, Barcelona, 103-131.
  48. GARCÍA, J.; MENA, M. A; CASAJEROS, M. J. y PARDO, B. (1991) Aspectos neuroquímicos de la enfermedad de Parkinson. En J. M. Peinado y M. C. Iríbar (eds.) *Bases neuroquímicas del envejecimiento cerebral: enfermedad de Alzheimer*. Universidad de Granada, 149-168.
  49. GERFEN, C. R.; HERKENHAM, M. y THIBAUT, J. (1987) The neostriatal mosaic II.- Compartamental organization of mesostriatal dopaminergic and non-dopaminergic system. *J Neurosc.* 7: 3915-3934.

- 
50. GERFEN, C. R.; STAINES, W. A.; ARBUTHNOTT, G. W. y FIBIGER, H. C. (1982) Crossed connections of the substantia nigra in the rat. *J Comp Neurol.* 207: 283-303.
  51. GERFEN, C. R.; ENGBER, T. R.; MAHAN, L. C.; SUZEL, Z.; CHASE, T. N.; MONSMA, F. R. y SIBBLEY, D. R. (1990) D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> dopamine receptors-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 250: 1429-1432.
  52. GERFEN, CH. R. (1992) The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosc.* 15 (4): 133-138.
  53. GIMÉNEZ, S. (1991) Trasplantes cerebrales en la enfermedad de parkinson. En Optimización del tratamiento del Parkinson, Egraf, Madrid, 23-40.
  54. GONZALEZ, J. A. (1981) Nigro-reticular pathway in the rat: an intracellular study. *Brain Res* 207: 170-173.
  55. GOLDMAN-RAKIC, P. S. y SELEMON, L. D. (1990) New frontiers in basal ganglia research. *Trends Neurosc.* 13 (7): 241-244.
  56. GRACE, A. A. y BUNNEY, B. S. (1980) Nigral dopamine neurons: intracellular identification with L-Dopa injection and histofluorescence. *Science* 210: 654-656.
  57. GRACE, A. A. y BUNNEY, B. S. (1983a) Intracellular and extracellular electrophysiology of nigral dopaminergic neurons 1.- Identification and characterization. *Neuroscience* 10 (2): 301-315.
  58. GRACE, A. A. y BUNNEY, B. S. (1983b) Intracellular and extracellular electrophysiology of nigral dopaminergic neurons. 2.- Action potential generating mechanisms and morphological correlates. *Neuroscience* 10 (2): 317-331.
  59. GRACE, A. A. y BUNNEY, B. S. (1983c) Intracellular and extracellular electrophysiology of nigral dopaminergic neurons. 3.- Evidence for electrotonic coupling. *Neuroscience* 10 (2):333-348.
  60. GRACE, A. A. y BUNNEY, B. S. (1984) The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: burst firing. *J. Neuroscience* 4 (11):2877-2890.
  61. GRACE, A. A. y BUNNEY, B. S. (1985) opposing effects of striatonigral feedback pathways on midbrain dopamine cell activity. *Brain Res.* 333: 271-284.
  62. GRAYBIEL, A. M.(1990) Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends in Neurosc.* 13 (7):244-254.
  63. GROFOVA, I.; DENIAU, J. M. y KITAI, S. T.(1982) Morphology of the substantia nigra pars reticulata projection neurons intracellularly labeled with HRP. *J. Comp. Neurol.* 208: 352-368.
  64. GROFOVA, I.; DENIAU, J. M.; KITAI, S. T. y DONOGHUE, J. P.(1982). Neuronal interactions in the substantia nigra pars reticulata through axon collaterals of the projection neurons. *Exp. Brain Res.* 47: 105-
  65. GUYENET, P. G. y AGHAJANIAN, G. K. (1978) Antidromic identification of dopaminergic and other output neurons of the rat substantia nigra. *Brain Res.* 150: 69-84.
  66. GUYENET, P. G. y CRANE, J. K. (1981) Non-dopaminergic nigrostriatal pathway. *Brain Res.* 213: 291-305.
  67. GUYTON, A. C. y HALL, J. E. (2001) Tratado de fisiología médica. 10 ed. Mc Graw-Hill Interamericana de España, Madrid.

- 
68. HAJOS, M. y GREENFIELD, S. A. (1994) Synaptic connections between pars compacta and pars reticulata neurones: electrophysiological evidence for functional module within the substantia nigra. *Brain Res.* 660: 216-224.
  69. HAY-SCHMIDT, A. y MIKKELSEN, J. D. (1992) Demonstration of a neuronal projection from entopeduncular nucleus to the substantia nigra of the rat. *Brain Res.* 576: 343-347.
  70. HEIMER, L.; ALHEID, G. F. y ZABORSZKY, L. (1985) Basal ganglia. En G. Paxinos (ed.) The rat nervous system. Vol. 1 Academic Press, Sydney, 37-86.
  71. HERRERA-MARSCHITZ, M.; CHRISTENSSON-NYLANDER, I.; SHARP, T.; STAINES, W. REID, M.; HÖKFELT, T.; TERENIUS, L. y UNGERSTEDT, U. (1986) Striato-nigral dynorphin and substance P pathways in the rat. II.- Functional analysis. *Exp Brain Res.* 64: 193-206.
  72. HERRERO, M. T.; AUGOOD, S. J.; HIRSCH, E. C.; JAVOY-AGID, F.; LUQUIN, M. R.; AGID, Y.; OBESO, J. A. y EMSON, P. C. (1995) Effects of l-dopa on preenkaphalin and preprotaquikinin gene expression in the MPTP-treated monkey striatum. *Neuroscience* 68: 1189-1198.
  73. HIKOSAKA, O. y WURTZ, R. H. (1983) Visual and oculomotor functions of monkey substantia nigra pars reticulata. I.- Relation of visual and auditory responses to saccades. *J. Neurophysiol.* 49:1230-1253.
  74. HIKOSAKA, O.; SAKAMOTO, M. y MIYASHITA, N. (1993) Effects of caudate nucleus stimulation on substantia nigra cell activity in monkey. *Exp Brain Res.* 95: 457-472.
  75. HOMMER, D. W. y BUNNEY, B. S. (1980) Effect of sensory stimuli on the activity of dopaminergic neurons: involvement of non-dopaminergic nigral neurons and striato-nigral pathways. *Life Sci.* 27: 377-386.
  76. INGLIS, W. L.; ALLEN, L. F.; WHITELAW, R. B.; LATIMER, M. P.; BRACE, H. M. y WINN, P. (1994) An investigation into the role of the pedunculo-pontine tegmental nucleus in the mediation of locomotion and orofacial stereotypy induced by d-amphetamine and apomorphine in the rat. *Neuroscience* 58(4): 817-833.
  77. JAIM-ETCHVERRY, (1984) Eduardo De Robertis at 70. *Trends Neurosc.* 7 (5): 138-140.
  78. JANKOVIK, J. (1991) Horizontes del tratamiento de la enfermedad de Parkinson. En Optimización del tratamiento del Parkinson, Egraf, Madrid, 61-75.
  79. JANKOVIC, J.; HAMILTON, W. y CROSSMAN, R. G. (1997) Thalamic surgery for movements disorders. *Adv Neurol* 74: 221-235.
  80. JIMÉNEZ, F. L. y LADERO, J. M. (1990) Modelo experimental de parkinsonismo por una neurotoxina: implicaciones en la clínica y en la etiología de la enfermedad de Parkinson. *Med. Clin (Barc)* 94: 585-595.
  81. KANG, Y. y KITAI, S.T. (1990) Electrophysiological properties of pedunculo-pontine neurons and their postsynaptic responses following stimulation of substantia nigra reticulata. *Brain Res* 535(1):79-95.
  82. LEMON, R. (1984) Methods for neural recording in conscious animals. John Willey & Sons, N. York.
  83. MACLEOD, N. K.; RYMAN, A. y ARBUTHNOTT, G. W. (1990) Electrophysiological properties of nigrothalamic neurons after 6-hydroxidopamine lesions in the rat. *Neuroscience* 38(2):447-456.
  84. MCNAIR, J. L.; SUFIN, J. y TSUBOKAWA, T. (1972) Suppression of cell firing in the substantia nigra by caudate nucleus stimulation. *Exp Neurol* 37: 395-411.

- 
85. MAHY, N. (1991a) Modelos experimentales de Parkinson. En J. E. Esquerda; R. Gallego; A. Gual; G. Ramírez y F. Rubia (eds). Neurotransmisión y plasticidad sináptica. Espaxs, Barcelona, 227-241.
  86. MAHY, N. (1991b) Parkinson por MPTP: ¿un modelo real o aproximado?. En J. M. Peinado y M. C. Iríbar (eds.) Bases neuroquímicas del envejecimiento cerebral: enfermedad de Alzheimer. Universidad de Granada, 169-191.
  87. MELAMED, E. (1991) Problemas asociados a la terapia crónica con levodopa. En Optimización del tratamiento del Parkinson, Egraf, Madrid, 77-92.
  88. MENA, M. A. y GARCÍA, J. J (1990) Anatomía y bioquímica de los ganglios basales. *Jano* 39 (918): 59-70.
  89. NAMBU, A. y LLINÁS, R (1997) Morphology of globus pallidus neurons: its correlation with electrophysiology in guinea pig brain slices. *J Comp Neurol* 377(1):85-94.
  90. The Nobel Assembly at the Karolinska Institute [Internet]. Press Release: The 2000 Nobel Prize in Physiology or Medicine (Citado el 26 de enero de 2002). Disponible en: <http://www.nobel.se/medicine/laureates/2000/press.html>
  91. NODA, T. y OKA, H. (1984) Nigral inputs to the pedunclopontine region: intracellular analysis. *Brain Res.* 322: 332-336.
  92. OBESO, J. A. y ARTIEDA, J. (1991) Fisiopatología de la enfermedad de Parkinson. En Optimización del tratamiento del Parkinson, Egraf, Madrid, 95-101.
  93. OORSCHOT, D. E. (1996) Total number of neurons in the neostriatal, pallidal, subthalamic and substantia nigra nigral nuclei of the rat basal ganglia. A stereological study using the Cavalieri and optical disector methods. *J Comp Neurol* 366(4): 580-599.
  94. PARENT, A. (1986) Comparative neurobiology of the basal ganglia. John Wiley & Sons, N. York.
  95. PARENT, A. (1990) Extrinsic connections of the basal ganglia. *Trends in Neurosc.* 13 (7):254-258.
  96. PARENT, A. y HAZRATI, L. N. (1995) Functional anatomy of the basal ganglia I.- The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Rev.* 20: 91-127.
  97. PAXINOS, G. y WATSON, C. (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd. ed. Academic Press, Australia.
  98. PAXINOS, G. y TÖRK, I. (1990) Neuroanatomical nomenclature. *Trends Neurosc.* 13 (5): 169.
  99. PICCOLINO, M. (1997) Luigi Galvani and animal electricity: two century after the foundation of electrophysiology. *Trends Neurosc.* 20 (10): 443-448.
  100. PICCOLINO, M. y BRESADOLA, M. (2002) Drawing a spark from darkness: John Walsh and electric fish. *Trends Neurosc.* 25 (1): 51-57.
  101. PORTERA, A. (1991) Epidemiología de la enfermedad de Parkinson. En Optimización del tratamiento del Parkinson, Egraf, Madrid, 103-123.
  102. RAJAKUMAR, N.; ELISEVICH, K. y FLUMERFELT, B. A. (1993) Compartmental origin of the striato-entopeduncular projection in the rat *J. Comp. Neurol.* 331(2):286-296.
  103. RANCK, J. B. (1975) Which elements are excited in electrical stimulation of mammalian central nervous system: a review. *Brain Res.* 98: 417-440.
  104. REAL DECRETO 223/1988, de 14 de marzo, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. B.O.E. N° 67 18 de marzo 1988: 8509-8512.

- 
105. REDGRAVE, P.; MARROW, L. y DEAN, P. (1992) Topographical organization of the nigrothalamic projection in rat: evidence for segregated channels. *Neuroscience* 50(3): 571-595.
106. REID, M. S.; HERRERA-MARSCHITZ, M.; HÖKFELT, T.; LINDEFORS, N.; PERSSON, H. y UNGERSTEDT, U. (1990a) Striatonigral GABA, dynorphin, substance P, and neurokinin A modulation of nigrostriatal dopamine release: evidence for direct regulatory mechanisms. *Exp Brain Res.* 82: 293-303.
107. REID, M. S.; HERRERA-MARSCHITZ, M.; HÖKFELT, T.; OHLIN, M.; VALENTINO, V. L. y UNGERSTEDT, U. (1990b) Effects of substance P and neurokinin on striatal dopamine release. I.- interaction with substantia P agonists. *Neuroscience* 36: 643-658.
108. RESEARCH BIOCHEMICALS INTERNATIONAL (1996) Catalog/Handbook; neurochemical for the neuroscientist., U. S. A.
109. ROBERTSON, H. A. (1992) Dopamine receptor interactions: some implications for the treatment of Parkinson's disease. *Trends Neurosc.* 15 (6): 201-206.
110. ROBINSON, T. E.; MOCSARY, Z.; CAMP, D. M. y WHISHAW, I. Q. (1994). Time course of recovery of extracellular dopamine following partial damage to the nigrostriatal dopamine system. *J Neurosci* 14 (5): 2687-2669.
111. ROBLEDO, P. y FÉRGER, J. (1992) Acute monoaminergic depletion in the rat potentiates the excitatory effect of the subthalamic nucleus in the substantia nigra pars reticulata but not in the pallidal complex. *J Neural Transm Gen Sect* 86: 115-126.
112. RODRÍGUEZ, M. y BARROSO, N (1996) Beta-phenylethylamine regulation of dopaminergic nigrostriatal cells activity. *Brain Res* 703: 201-204.
113. RODRÍGUEZ, M. C.; GOSPORE, A.; MOZO, A.; GURIDI, J.; RAMOS, E.; LINAZASORO, G. y OBESO, J. A. (1997) Characteristics of neuronal activity in the subthalamic nucleus and substantia nigra pars reticulata in Parkinson's disease. *Soc Neurosc Abs.* 23: 471.
114. RODRÍGUEZ, M.; ABDALA, P. y OBESO, J. A. (2000) Excitatory responses in the "direct" striatonigral pathway. Effect of nigrostriatal lesion. *Mov Disord* 15 (5): 795-803.
115. RODRÍGUEZ, M.; ABDALA, P.; BARROSO-CHINEA, P. y GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, T. (2001) The deep mesencephalic nucleus as an output center of basal ganglia: morphological and electrophysiological similarities with the substantia nigra. *J Comp Neurol.* 438 (1): 12-31.
116. RUFFIEUX, A. y SCHULTZ, W. (1980) Dopaminergic activation of reticulata neurons in the substantia nigra. *Nature* 285: 240-241.
117. RUGG, E. L.; DUNBAR, J.S.; LATIMER, M. y WINN, P. (1992) Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus of the rat. I.- Comparison of the effects of various excitotoxins, with particular reference to the loss of immunohistochemically identified cholinergic neurons. *Brain Res* 589(2):181-193.
118. RYE, D. B.; SAPER, C. B.; LEE, R. J. y WAINER, B. H. (1987) Pedunculopontine tegmental nucleus of the rat: cytoarchitecture, cytochemistry and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum. *J Comp Neurol.* 252: 483-528.
119. SABATÉ, M. (1994). Trastornos motores primarios y alteraciones no neurológicas secundarias como causa de limitación funcional en la enfermedad de Parkinson. Tesis Doctoral, Univ. de La Laguna, 214.
120. SANDERSON, P.; MAVOUNG, R.; ELBE-FESSARD, D. (1986) Changes in substantia nigra pars reticulata activity following lesions of the substantia nigra pars compacta. *Neurosc Lett.* 67: 25-30.

- 
121. SCARNATI, E. y FLORIO, T. (1997) The pedunculopontine nucleus and related structures. Functional organization. *Adv Neurol* 74:97-110.
122. SCHUETZE, (1983) The discovery of the action potential. *Trends Neurosc.* 6 (5): 164-168.
123. SMITH, Y. y BOLAM, J. P. (1989) Neurons of the substantia nigra reticulata receive a dense GABA-containing input from the globus pallidus in the rat. *Brain Res.* 493:160-167.
124. SMITH, A. D. y BOLAM, J. P. (1990) The network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurones. *Trends Neurosc.* 13 (7): 259-265.
125. SMITH, Y.; WICHMANN, T. y DeLONG, M. R. (1994). Synaptic innervation of neurones in the internal pallidal segment by the subthalamic nucleus and the external pallidum in monkey. *J. Comp. Neurol.* 343(2): 297-318.
126. STECKLER, T.; INGLIS, W.; WINN, P. y SAHGAL, A. (1994) The pedunculopontine tegmental nucleus: a role in cognitive processes? *Brain Res. Rev.* 19: 298-318.
127. STEINDLER, D. A. y DENIAU, J. M. (1980) Anatomical evidence for collateral branching of substantia nigra neurons: a combined horseradish peroxidase and [<sup>3</sup>H] wheat germ agglutinin axonal transport study in the rat. *Brain Res.* 196: 228-236.
128. STEININGER, T. L.; RYE, D. B. y WAINER, B. H. (1992) afferent projections to the cholinergic pedunculopontine tegmental nucleus and adjacent midbrain extrapyramidal area in the albino rat. I.-Retrograde tracing studies. *J Comp Neurol.* 321: 515-543.
129. STEINFELS, G. F.; HEYM, J.; STRECKER, R. E. y JACOBS, B. L. (1983) Behavioral correlates of dopaminergic unit activity in freely moving cats. *Brain Res.* 258: 217-228.
130. STEVENS, L. A. (1974) Exploradores del cerebro. Barral editores, Barcelona.
131. SOMOGYI, P.; BOLAM, J. P.; TOTTERDELL, S. y SMITH, A. D. (1981) Monosynaptic input from the nucleus accumbens-ventral striatum region to retrogradely labelled nigrostriatal. *Brain Res.* 217: 245-263.
132. SPANN, B. M. y GROFOVA, I. (1992) Cholinergic and non-cholinergic neurons in the rat pedunculopontine tegmental nucleus. *Anat Embryol* 186(3):215-227.
133. TAKAKUSAKI, T.; SHIROYAMA, T.; YAMAMOTO, T. y KITAI, T. (1996). Cholinergic and non cholinergic tegmental pedunculopontine projection neurons in rat revealed by intracellular labeling *J. Comp. Neurol.* 371: 345-361.
134. TAKAKUSAKI, K; SHIROYAMA, T. y KITUI, S. T. (1997) Two types of cholinergic neurons in the rat tegmental pedunculopontine nucleus: electrophysiological and morphological characterization. *Neuroscience* 79(4):1089-109.
135. TEPPER, J. M.; MARTIN, L. P. Y ANDERSON, D. R. (1995). GABA<sub>A</sub> receptor-mediated inhibition of rats substantia nigra dopaminergic neurons by pars reticulata projection neurons. *J. Neurosci.* 15:3092-3103.
136. TRULSON, M. E.; PREUSSLER, D. W. y HOWELL, G. A. (1981) Activity of substantia nigra units across the sleep-waking cycle in freely moving cats. *Neurosc. Lett.* 26: 183-188.
137. VAN DER KOOY, D. y CARTER, D. A. (1981). The organization of the efferent projections and striatal afferents of the entopeduncular nucleus and adjacent areas in the rat. *Brain Res.* 211(1):15-36.
138. VEAZEY R. B. y SEVERIN C. M. (1980a) Efferent projections of the deep mesencephalic nucleus (pars lateralis) in the rat. *J Comp Neurol* 190(2):231-244.

- 139.VEAZEY R. B. y SEVERIN C. M. (1980b) Efferent projections of the deep mesencephalic nucleus (pars medialis) in the rat. *J Comp Neurol* 190(2):245-58.
- 140.VEAZEY, R. B. y SEVERIN, C. M. (1982) Afferent projections to the deep mesencephalic nucleus in the rat. *J Comp Neurol* 204(2):134-150.
- 141.WILSON, C. J.; YOUNG, S. J. y GROVES, P. M. (1977) Statistical properties of neuronal spike trains in the substantia nigra: cell types and their interactions. *Brain Res.* 136: 243-260.
- 142.YUNG, K. K. L.; SMITH, A. D.; LEVEY, A. I. y BOLAM, J. P. (1996). Synaptic connections between spiny neurons of direct and indirect pathway in the striatum in the rat: evidence from dopamine receptor and neuropeptide immunostaining. *Eur. J. Neurosc.* 8 (5): 861-869.
- 143.WILLIAMS, P. L.y WARWICK, R. (1992) Gray anatomy. Vol. 2. Churchill Livingstone, Madrid.
- 144.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.