



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Biológicas
Licenciatura en Biología
Laboratorio de Neurofarmacología

TESIS

“Estudio de las discinesias inducidas por L-DOPA en el estriado dorsolateral en un modelo animal Parkinsoniano”

Que para obtener el título de

Licenciada en Biología

Presenta

María Carolina De Los Santos Zarate

DIRECTORES DE TESIS

Dr. Ilhuicamina Daniel Limón Pérez de León
Laboratorio de Neurofarmacología-FCQ, BUAP

Dra. Aleidy Patricio Martínez
Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP



Febrero 2025

*Estudio de las discinesias inducidas por L-DOPA en el estriado dorsolateral
en un modelo animal Parkinsoniano*

A mis padres, por ser mi mayor inspiración y apoyo incondicional

A los revisores del presente trabajo

M. en C. Montserrat Vázquez Balbuena

Dra. Adriana Berenice Silva Gómez

Dr. Felipe Patricio Martínez

Les expreso mi más profundo agradecimiento y admiración por sus valiosos comentarios y dedicación que brindaron a este trabajo. Sus observaciones han sido fundamentales para enriquecer el contenido y contribuir a mi desarrollo académico.

Al Dr. Eleazar Ramírez Hernández

Agradezco sinceramente su donación de L-DOPA al Laboratorio de Neurofarmacología, la cual hizo posible la culminación de los trabajos experimentales y, por ende, de esta tesis.



A los animales de laboratorio, cuya contribución es fundamental para los avances científicos y para el desarrollo de conocimientos que benefician a toda la humanidad.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Daniel Limón por brindarme la oportunidad de desarrollar este trabajo en el Laboratorio de Neurofarmacología. Le agradezco sus valiosos aportes a esta tesis, por su paciencia, dedicación y confianza durante todo el proceso. Sus enseñanzas no solo enriquecieron mi trabajo, sino que también contribuyeron de manera significativa en mi formación académica y personal.

A la Dra. Aleidy Patricia Martínez por aceptar formar parte de este trabajo, por el tiempo que le dedicó y por transmitirme su pasión por la ciencia. Cada una de sus enseñanzas permanecen conmigo, y este trabajo refleja no solo su dedicación, sino también el impacto que ha tenido en mi formación.

A mi papá, Alberto y mi mamá, Mina, por su apoyo incansable, su tiempo, cuidados, sacrificios, consejos y amor, que me han llevado hasta donde estoy. Este logro es tanto mío como de ustedes, porque sin su confianza esto nunca habría sido posible. Gracias por creer en mí en cada paso que doy. Los amo.

A mis hermanas Pamela y Nini por siempre cuidarme, acompañarme y estar para mí. A la familia Zarate que nunca dejan de estar presentes, aunque sea a la distancia.

A mis amigos, gracias por hacer de la universidad una gran experiencia. En especial a Iris y Jesús, por su apoyo incondicional y por estar a mi lado en todo momento. Aunque a veces tomemos caminos distintos, sé que su amistad siempre me acompaña.

A la Dra. Lourdes Guerrero, quien siempre está dispuesta a compartir sus conocimientos, especialmente en la bioquímica. Le agradezco por mostrarme lo fascinante de esta disciplina, por su paciencia y por su confianza. Sus observaciones sobre mi trabajo han sido de gran ayuda.

Finalmente quiero agradecer a quienes han formado o forman parte del laboratorio de Neurofarmacología: Víctor Crisanto, Sergio Bonilla, Leonardo Acevedo, Nancy Chávez, Alondra Rueda, Edgar Macuil, Tamara Tzompantzi, Jovana Díaz, Steven Flores, Dulce Manuel, Mariana Valencia y Elizabeth Martínez. Aprecio sus comentarios en los seminarios, su apoyo en la conducta de giro y, sobre todo, su amistad. Quiero agradecer especialmente a Elizabeth Machorro, Angélica Aguilar y Enoc Martínez por estar tan de cerca en mi proyecto y por el apoyo que me brindaron en todo momento.

INDICE GENERAL

ABREVIATURAS	i
RESUMEN	iii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Circuito de los ganglios basales	1
1.2 El núcleo estriado.....	2
1.3 Sistema dopaminérgico.....	5
1.4 Receptores dopaminérgicos	7
1.5 La enfermedad de Parkinson.....	9
1.5.1 Fisiopatología de la Enfermedad de Parkinson.....	9
1.5.2 Terapéutica para la Enfermedad de Parkinson.....	10
1.6 Modelos animales Parkinsonianos.....	12
1.7 Discinesias inducidas por L-DOPA	15
II. JUSTIFICACIÓN	19
III. HIPÓTESIS	20
IV. OBJETIVOS.....	20
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	20
4.2 OBJETIVOS PARTICULARES	20
V. METODOLOGÍA.....	21
5.1 Diagrama de trabajo.....	21
5.2 Sujetos de experimentación	21
5.3 Cirugía estereotáxica.....	21
5.4 Prueba del cilindro	22
5.5 Conducta de giro.....	22
5.6 Tratamiento con L-DOPA	23
5.7 Videograbación de las discinesias	23
5.8 Cuantificación de las discinesias	24
5.9 Procesamiento de los tejidos: Tinción de Nissl	26
5.9.1 Procesamiento de los tejidos: Inmunohistoquímica para Tirosina hidroxilasa...27	
5.10 Análisis estadístico	28

VI. RESULTADOS	29
6.1 Localización del sitio de lesión en el estriado dorsolateral.....	29
6.2 Efecto de la administración de 6-OHDA en el estriado dorsolateral sobre la asimetría motora	29
6.3 Efecto de la administración crónica de L-DOPA sobre las discinesias	32
6.4 Efecto de la administración crónica de L-DOPA sobre la citoarquitectura de células estriatales	33
6.5 Efecto de la administración crónica de L-DOPA sobre la inmunorreactividad para tirosina hidroxilasa en la SNpc y el estriado.....	35
VII. DISCUSIÓN	37
VIII. CONCLUSIONES	44
IX. REFERENCIAS	45
X. ANEXOS	55

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Circuito de los ganglios basales	2
Figura 2. Anatomía del cuerpo estriado.....	3
Figura 3. Divisiones funcionales del estriado.....	4
Figura 4. Síntesis y liberación de dopamina.....	6
Figura 5. Vía nigroestriatal.....	7
Figura 6. Vías de señalización de los receptores dopaminérgicos	8
Figura 7. Fisiopatología de la EP.....	10
Figura 8. Mecanismo de acción de L-DOPA	11
Figura 9. Mecanismo de acción del MPTP.....	13
Figura 10. Mecanismo tóxico de 6-OHDA.	15
Figura 11. Mecanismo molecular de las LID	17
Figura 12. Estructura química de benserazida y levodopa.....	23
Figura 13. Discinesias en ratas	24
Figura 14. Tinción de Nissl en el estriado.....	27
Figura 15. Lesión dopaminérgica con 6-OHDA	29
Figura 16. La inyección de 6-OHDA en el estriado induce asimetría motora	30
Figura 17. El porcentaje de uso de la extremidad ipsilateral disminuye conforme transcurre el tiempo	31
Figura 18. La 6-OHDA produjo depleción en la conducta de giro	32
Figura 19. La L-DOPA induce discinesias orolinguales	33
Figura 20. Diferencias morfológicas en las neuronas del estriado.....	34
Figura 21. Inmunorreactividad para TH en el estriado.....	35
Figura 22. Inmunorreactividad para TH en la SNpc	36
Figura 23. Mecanismo de acción hipotético de la toxicidad de L-DOPA.....	43

ABREVIATURAS

AC	Adenilato Ciclasa
ALDH	Aldehído deshidrogenasa
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
AP	Anteroposterior
ATV	Área tegmental ventral
BHE	Barrera Hematoencefálica
BH₄	Tetrahidrobiopterina
COMT	Catecol-O-metiltransferasa
CPu	Caudado-Putamen
DA	Dopamina
DARPP-32	Fosfoproteína 32 regulada por dopamina y AMPc
DAT	Transportador de dopamina
DCAA	Descarboxilasa de aminoácidos aromáticos
DC	Dorsocentral
DM	Dorsomedial
DL	Dorsolateral
DV	Dorsoventral
EP	Enfermedad de Parkinson
ERK	Cinasa a respuesta extracelular
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GB	Ganglios Basales
GPe	Globo Pálido externo
GPi	Globo Pálido interno
HPM	Haz prosencefálico medial
IHQ	Inmunohistoquímica
i.p	intraperitoneal
L-DOPA	L-3,4-dihidroxifenilalanina
LIDs	Discinesias Inducidas por L-DOPA
MAO	Monoamino oxidasa
MAPK	Proteína cinasa de activación mitogénica

ML	Mediolateral
MPP	1-metil-4-fenilpiridinio
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
NEM	Neuronas espinosas medianas
NEMd	Neuronas espinosas de proyección de la vía directa
NEMi	Neuronas espinosas de proyección de la vía indirecta
NST	Núcleo Subtalámico
PBS	Buffer de Fosfatos
PFA	Paraformaldehído
PKA	Proteína cinasa dependiente de AMPc
PKB	Proteína cinasa B
PKC	Proteína cinasa C
PLC	Fosfolipasa C
s.c	subcutánea
SNC	Sistema Nervioso Central
SNpc	Sustancia <i>nigra pars compacta</i>
SNpr	Sustancia <i>nigra pars reticulata</i>
SSI	Solución Salina Isotónica
TH	Tirosina Hidroxilasa
5-HT	5-hidroxitriptamina (serotonina)
6-OHDA	6-hidroxidopamina
VC	Ventrocentral
VL	Ventrolateral
VM	Ventromedial
VMAT-2	Transportador vesicular de monoaminas tipo-2

RESUMEN

La Enfermedad de Parkinson es un trastorno crónico, progresivo e irreversible que se caracteriza por la muerte de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia *nigra pars compacta*. Esta deficiencia de dopamina se compensa con la administración de L-DOPA, un precursor de la dopamina que puede atravesar la barrera hematoencefálica y ejercer su efecto en el Sistema Nervioso Central. Sin embargo, el uso crónico de L-DOPA conduce a la aparición de discinesias, caracterizadas por movimientos involuntarios y descontrolados, que llegan a ser más discapacitantes que la propia enfermedad. El núcleo estriado dorsolateral desempeña un papel importante en el movimiento dentro del circuito de los ganglios basales, pero, su papel dentro de las discinesias aún no es claro.

El objetivo fue evaluar las discinesias y los cambios en la citoarquitectura celular producidos por la administración crónica de L-DOPA en ratas lesionadas con 6-OHDA en el estriado dorsolateral. Se lesionaron ratas macho con 6-OHDA en el estriado dorsolateral y se evaluó la asimetría motora a los días 7 y 14 mediante la prueba del cilindro y la conducta de giro, a los 18 días post-lesión se empezó con el tratamiento crónico con L-DOPA (10mg/kg) i.p con una duración de 30 días. Se evaluaron las discinesias en 7 días distintos a lo largo del tratamiento. Los resultados muestran que la 6-OHDA indujo asimetría motora. Sin embargo, el tratamiento con L-DOPA solo indujo discinesias orolinguales que se presentaron con poca frecuencia. Además, se observó daño en el núcleo y nucleolo de las células estriatales.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Circuito de los ganglios basales

Los ganglios basales (GB) son un conjunto de núcleos subcorticales, ubicados en la base de los hemisferios cerebrales. Están involucrados en la planificación y en el control del movimiento voluntario, así como en la regulación del tono muscular y de la postura, en el aprendizaje asociativo, en la memoria de trabajo y en las emociones (Montenegro *et al.*, 2022). La organización de los GB incluye al cuerpo estriado, al globo pálido (externo e interno), al núcleo subtalámico y a la sustancia *nigra* (compacta y reticulata) (Obeso *et al.*, 2008).

Los GB se dividen en tres categorías: núcleos de entrada, núcleos de salida y núcleos intrínsecos. Los núcleos de entrada incluyen al cuerpo estriado y el núcleo accumbens, que reciben proyecciones de la corteza, del tálamo, del tronco encefálico y de la sustancia *nigra*. Los núcleos de salida como el globo pálido interno (GPi) y la sustancia *nigra reticulata* (SNpr) son estructuras que envían información al tálamo. Finalmente, los núcleos intrínsecos que consisten en el globo pálido externo (GPe), el núcleo subtalámico (NST) y la sustancia *nigra pars compacta* (SNpc), participan en el relevo de información (Rocha *et al.*, 2023) (Figura 1 A).

La eficiente ejecución de los movimientos voluntarios depende del procesamiento correcto de la información sensorio-motora en el cerebro. Este circuito integra las señales corticales, procesa la información y produce una señal de salida que regresa a la corteza, a través del tálamo, modulando así la ejecución del movimiento. La base del modelo de los ganglios basales consta de dos vías; la vía directa que facilita el movimiento y la vía indirecta que lo inhibe. El núcleo estriado recibe aferencias excitatorias glutamatérgicas de la corteza motora las cuales hacen sinapsis con la población principal de neuronas del estriado, las neuronas espinosas medianas (NEM) (Blandini *et al.*, 2000; Ospina *et al.*, 2017).

Las NEM de la vía directa proyectan señales inhibitorias al GPi y la SNr, reduciendo su actividad inhibitoria sobre el tálamo. Esto permite que el tálamo active la corteza motora y se ejecute el movimiento. En contraste, las NEM de la vía indirecta liberan GABA sobre el GPe, que inhibe tónicamente al NST. Al desinhibirse, el NST envía señales excitatorias al

GPI y la SNr, reforzando la inhibición sobre el tálamo y suprimiendo el movimiento (Ospina et al., 2017) (Figura 1B).

La actividad de ambas vías es modulada por los receptores dopaminérgicos. La dopamina se libera en todo el cuerpo estriado y actúa sobre los receptores D1 y D2. Las neuronas con receptores D1 controlan la vía directa, mientras que aquellas con receptores D2 regulan la vía indirecta. Dado que el estriado es la principal estructura de entrada de información hacia los ganglios basales, su organización anatómica y funcional juega un papel clave en la integración de señales corticales y dopaminérgicas (Rocha et al., 2023; Lanciego et al., 2012).

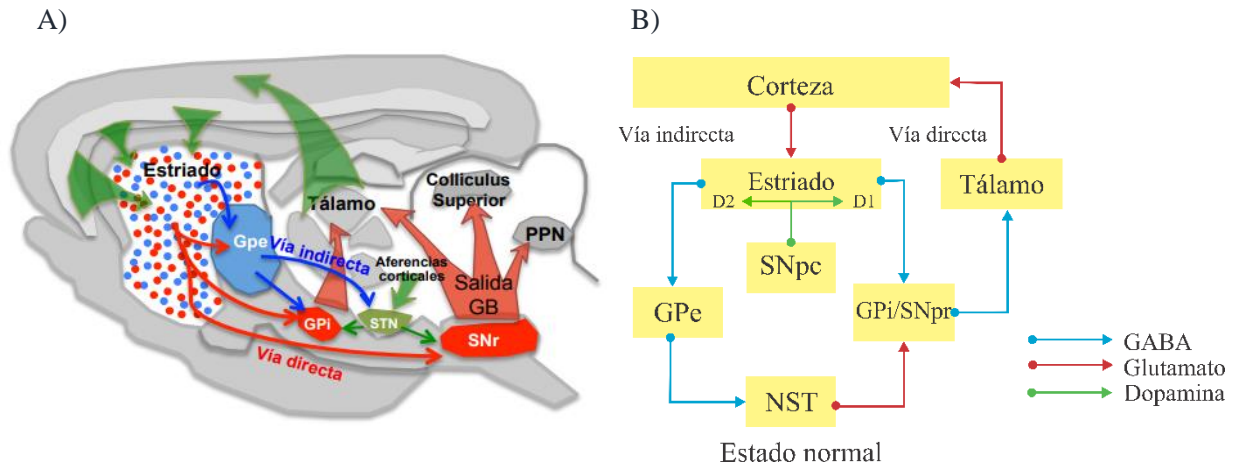


Figura 1. Circuito de los ganglios basales. A) esquematiza los núcleos que participan en el circuito de los ganglios basales, incluyendo las eferencias de cada núcleo. En B) representa el modelo de “caja y flecha” y describe su funcionamiento en condiciones normales. En rojo las neuronas excitatorias, en azul las neuronas inhibitorias y en verde neuronas dopaminérgicas (Tomado y modificado de Lanciego *et al*, 2012).

1.2 El núcleo estriado

El núcleo estriado es uno de los núcleos más grandes del sistema nervioso central de los roedores (SNC) El cuerpo estriado se compone por diferentes dominios y compartimentos, aunque en roedores carece de demarcaciones anatómicas visibles (Fieblinger, 2021).

El estriado se puede clasificar como un núcleo de entrada de los GB debido a que recibe las principales señales excitatorias de la corteza, del tálamo y de la amígdala. Además, cuenta con una inervación dopaminérgica, cuyas proyecciones provienen de regiones clave como la SNpc, el área tegmental ventral (ATV) y el área retrorubral (Steiner & Tseng, 2020) (Figura 2).

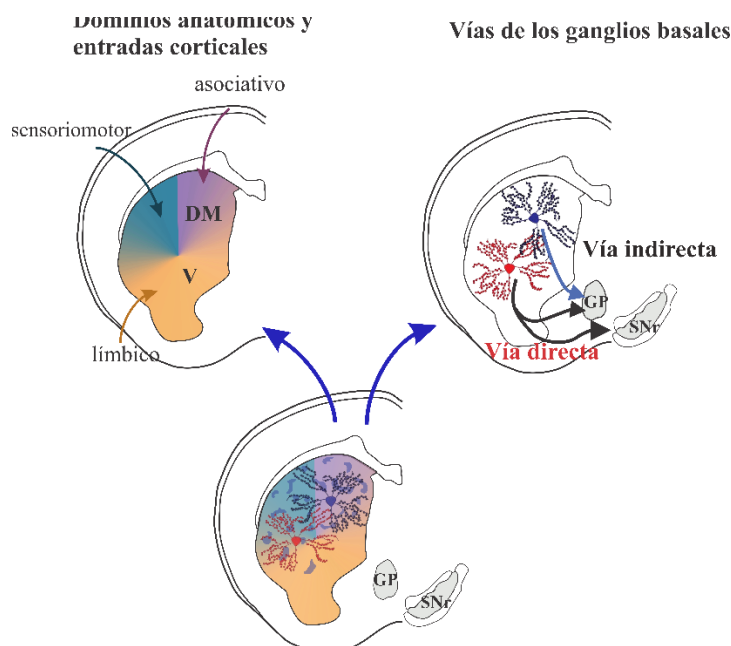


Figura 2. Anatomía del cuerpo estriado. Se muestran las divisiones funcionales del estriado respecto a la región dorsal y medial; las células que representan la vía indirecta y directa (Tomado y modificado de Fieblinger, T., 2021).

El cuerpo estriado contiene dos tipos de células: las neuronas espinosas medianas (NEM) que representan el 90% de la población neuronal, son de tipo inhibitorio ya que sintetizan al neurotransmisor GABA. El 10% restante está compuesto por interneuronas, las cuales se clasifican en cuatro grupos según su naturaleza neuroquímica: acetilcolina, somatostatina, NADPH-diaforasa y GABA asociado a parvalbúmina, siendo las colinérgicas las más abundantes (Lanciego *et al.*, 2012; Blandini *et al.*, 2000).

El estriado se ha dividido en tres dominios: dorsolateral (DL), dorsomedial (DM) y ventral (DV) debido a las variaciones funcionales. La región DL está involucrada predominantemente en la función sensoriomotora como el control locomotor y la formación de hábitos, la DM está principalmente involucrada en tareas asociativas, como el

comportamiento orientado a metas, formación de hábitos motores y coordinación de movimientos finos, mientras que el estriado ventral recibe proyecciones de áreas corticales límbicas como la corteza prefrontal, amígdala e hipocampo, involucradas en la motivación y las emociones (Fieblinger, 2021).

Deumens y colaboradores (2002) proponen seis dominios para la división funcional del estriado (Figura 3). La región dorsomedial (DM) está implicada en la toma de decisiones, comportamientos relacionados con la recompensa y la integración motora, mientras que la dorsocentral (DC) parece desempeñar un rol intermedio entre control motor y cognición. Por otro lado, la dorsolateral (DL) es crucial para la iniciación y el control, desempeña un papel en la planificación y ejecución de movimientos secuenciales y automatizados. La región ventromedial (VM) está vinculada con la regulación de emociones y comportamientos motivados, mientras que la ventrocentral (VC) también integra información emocional y motivacional. Finalmente, la ventrolateral (VL) se destaca por facilitar movimientos complejos y tareas motoras precisas.

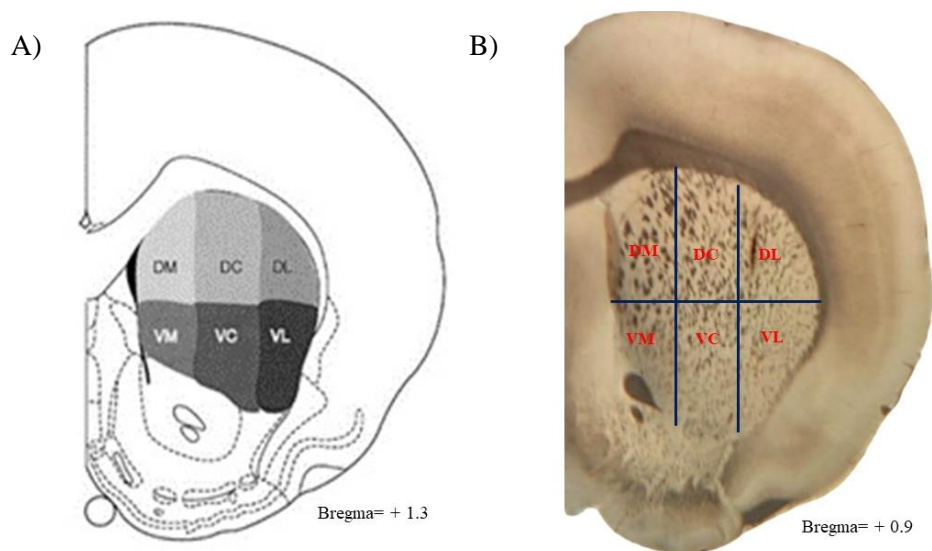


Figura 3. Divisiones funcionales del estriado. En la figura A) se muestra una representación de corte coronal con las divisiones del cuerpo estriado (Tomado y modificado de Deumens, *et al.*, 2002). En B) se presenta un corte coronal de cerebro de rata que muestra la región del estriado, obtenido en el Laboratorio de Neurofarmacología. El estriado se subdivide en una porción dorsal y una ventral, la región dorsolateral es la implicada en el control motor. DM: dorsomedial, DC: dorsocentral, DL: dorsolateral, VM: ventromedial, VC: ventrocentral y VL: ventrolateral.

La modulación dopaminérgica en el estriado es clave para la correcta regulación de los circuitos de los ganglios basales. La DA influye en las neuronas estriatales, facilitando el balance entre las vías directa e indirecta. Esta interacción permite el control preciso de los movimientos y el aprendizaje motor.

1.3 Sistema dopaminérgico

Las neuronas dopaminérgicas (DAérgicas) son anatómica y funcionalmente heterogéneas, localizadas en el telencéfalo. El contingente más numeroso de neuronas DAérgicas, alrededor del 70%, reside en el mesencéfalo ventral para formar tres núcleos distintos: la sustancia *nigra pars compacta*, el ATV y el núcleo retrorúbico (Speranza *et al.*, 2021).

La DA se sintetiza en las terminales axónicas mediante reacciones enzimáticas catalizadas por la tirosina hidroxilasa (TH). Esta enzima convierte la L-tirosina en L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA), que posteriormente es transformada en DA por la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (DCAA) (Figura 4A). Una vez sintetizada, la DA es almacenada en vesículas sinápticas de las neuronas catecolaminérgicas a través del transportador vesicular de monoaminas-2 (VMAT2).

Para que la DA sea liberada, es necesario el arribo de un potencial de acción en una neurona dopaminérgica. Una vez en la hendidura sináptica, la DA se une a los receptores dopaminérgicos D1 y D2 para ejercer su función. Después de la transmisión sináptica, la DA se recapturada por los transportadores de alta afinidad de la dopamina (DAT) o los transportadores de monoaminas de baja afinidad en la membrana plasmática (Fig. 4B). En el citosol, la DA puede ser reincorporada a las vesículas sinápticas o degradada. Además, la DA presente en la hendidura sináptica puede ser captada por astrocitos circundantes, donde es metabolizada por las enzimas monoaminoxidasas (MAO) y catecol-O-metiltransferasa (COMT) (Xu & Yang, 2022).

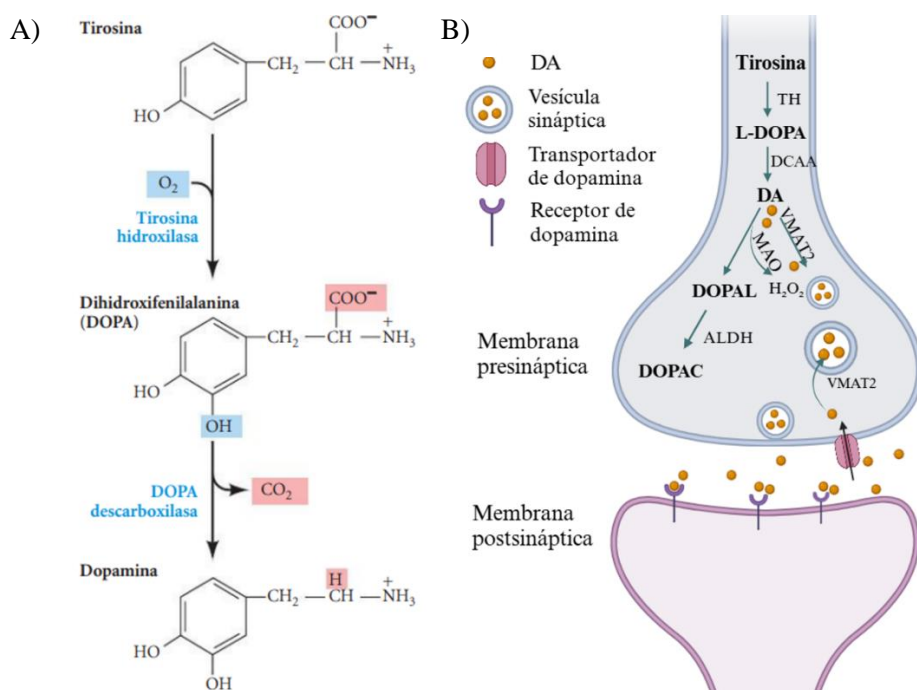


Figura 4. Síntesis y liberación de dopamina. En A) se muestra la ruta de síntesis que sigue la DA. En B) se esquematiza la interacción que ocurre en la terminal presináptica y la postsináptica. (Tomado y modificado de Xu & Yang, 2022).

Las principales vías dopaminérgicas en el cerebro incluyen los sistemas nigrostriatal, mesolímbico, mesocortical y tuberoinfundibular que desempeñan un papel vital en la regulación de muchas funciones fisiológicas importantes (Habibi, 2017).

La vía nigrostriatal se constituye desde la SNpc y proyecta terminales sinápticas a través de un axón mayoritariamente en la parte dorsal del estriado. Las neuronas dopaminérgicas en el estriado interactúan con otras entradas de neurotransmisores que se originan en varias regiones del cerebro, incluidas las proyecciones glutamatérgicas de la corteza y el NST, las entradas que contienen GABA y péptidos del cuerpo estriado, una entrada GABAérgica del globo pálido, una entrada serotoninérgica del núcleo dorsal del rafe, una entrada noradrenérgica del locus coeruleus y una entrada colinérgica del tronco encefálico. La vía nigrostriatal juega un papel crucial en el control de la postura, del comportamiento motor, y del aprendizaje de programas motores y hábitos (Janhunen, 2005).

El efecto modulador de la vía nigrostriatal sobre la actividad del estriado se da a través de la liberación de dopamina, la cual actúa sobre distintos tipos de receptores. Estos

receptores dopaminérgicos desempeñan un papel clave en la regulación de la señalización de las vías directa e indirecta, influyendo en la ejecución y control del movimiento.

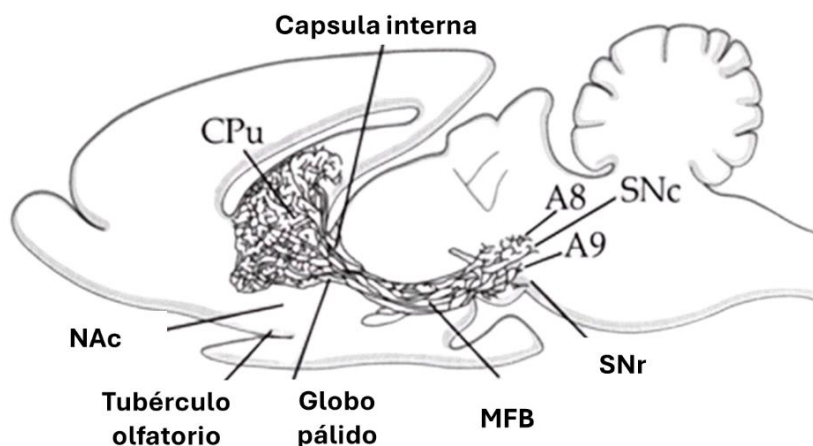


Figura 5. Vía nigroestriatal. Se muestra una representación de la vía nigroestriatal en cerebro de rata, esta vía está implicada en enfermedades relacionadas al control motor. (Tomado de Janhunen, 2005).

1.4 Receptores dopaminérgicos

Los receptores de dopamina son receptores acoplados a proteínas G, todos los receptores de DA tienen un extremo amino-terminal extracelular y siete hélices transmembrana. La hélice transmembrana está conectada por bucles de proteínas intracelulares y extracelulares. El carboxilo terminal del receptor de DA se encuentra en el espacio interno de la célula y desempeña funciones importantes como la interacción con proteínas G, regulación de señalización y desensibilización del receptor (Ma & Ou, 2023).

Los receptores de dopamina se clasifican en dos familias basadas en el acoplamiento preferencial de proteínas G: los receptores D1 y D5 (clase D1) que están canónicamente acoplados a $G_{as/olf}$, que estimula la actividad de las adenil ciclasas (AC) aumentando las concentraciones intracelulares de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y se expresan postsinápticamente, mientras que los receptores D2, D3 y D4 (clase D2), están acoplados principalmente a $G_{ai/olf}$, que inhibe la actividad de AC, reduciendo la producción de AMPC que se expresan tanto presináptica como postsinápticamente (Jones-Tabah *et al.*, 2022)

Los receptores dopaminérgicos tipo D1 y D2 tienen efectos opuestos sobre la adenilil ciclasa y la proteína quinasa A (PKA). Los receptores D1 activan PKA, mientras que los D2 la inhiben. PKA fosforila varias proteínas, entre ellas DARPP-32, una fosfoproteína clave en las NEM. Cuando PKA fosforila DARPP-32 en Thr34, esta inhibe la proteína fosfatasa 1 (PP1), lo que potencia la señalización de PKA y favorece la expresión génica. En contraste, la activación de receptores D2 reduce la fosforilación de DARPP-32 en Thr34, promoviendo la actividad de PP1 y disminuyendo la señalización PKA (Figura 6) (Klein et al., 2019). Dado que la dopamina juega un papel crucial en la modulación de la circuitería de los ganglios basales mediada por los receptores de DA, su desregulación o deficiencia genera una serie de alteraciones motoras. La enfermedad de Parkinson es el trastorno más común asociado con estas disfunciones, ya que implica una afectación del sistema dopaminérgico.

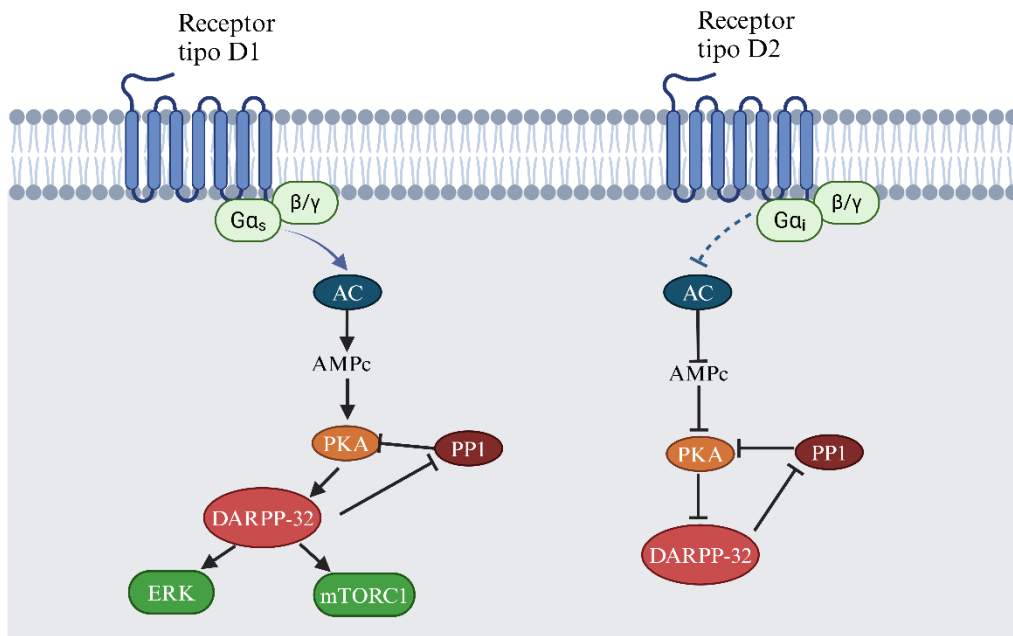


Figura 6. Vías de señalización de los receptores dopaminérgicos. Los receptores de la familia D1 se acoplan a proteínas G estimulantes para activar la AC produciendo AMPc, puede activar la vía PKA y la proteína DARPP-32 cuando es fosforilada en Thr 34. Los receptores D2 tienen el efecto contrario.

1.5 La enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) fue descrita por primera vez en 1817 por James Parkinson, quien pudo integrar en un único trastorno lo que en ese momento era considerado como diferentes enfermedades.

La EP se define como un trastorno crónico, progresivo e irreversible. Es la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente después de la enfermedad de Alzheimer. En el mundo afecta al 1% de la población mayor de 60 años, es poco frecuente antes de los 50 años y alcanza una prevalencia del 4% en los grupos de mayor edad (Tysnes & Storstein, 2017). Con el envejecimiento de la población, se espera que tanto la prevalencia como la incidencia de la EP aumenten en más del 30 % para 2030 (Kouli *et al.*, 2018).

La EP se clasifica en dos tipos: la EP familiar que representa aproximadamente el 10-20% de los casos y está asociada con mutaciones de varios genes como la α -sinucleína, LRRK2, Parkin y Pink1 los cuales están implicados en la disfunción de proteínas relacionadas con el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial. Por otro lado, la EP esporádica, que constituye la mayoría de los casos restantes y no se asocia con una mutación o patrón de herencia identificable (Elizondo-Cárdenas *et al.*, 2011). Se desconoce la etiología, aunque se le atribuyen a varios factores como el envejecimiento de la población, resultado del aumento de la esperanza de vida (Rocca, 2018), antecedentes familiares y a factores ambientales como la exposición a aguas residuales o pesticidas (Rodríguez *et al.*, 2013).

1.5.1 Fisiopatología de la Enfermedad de Parkinson

Las principales características neuropatológicas de la EP son la degeneración de las neuronas DAérgicas de la SNpc con la pérdida axonal que se proyecta hacia el cuerpo estriado a lo largo de la vía nigroestriatal, así como la agregación de la proteína α -sinucleína, lo que resulta en la pérdida de DA hacia el estriado provocando deterioro severo del control motor (MacMahon *et al.*, 2021) (Figura 7).

La EP se caracteriza por una disminución generalizada de los movimientos como es la tétada motora la cual incluye: acinesia o lentitud de los movimientos, temblor en reposo y rigidez muscular además de inestabilidad postural (Zafar & Yaddanapudi, 2023).

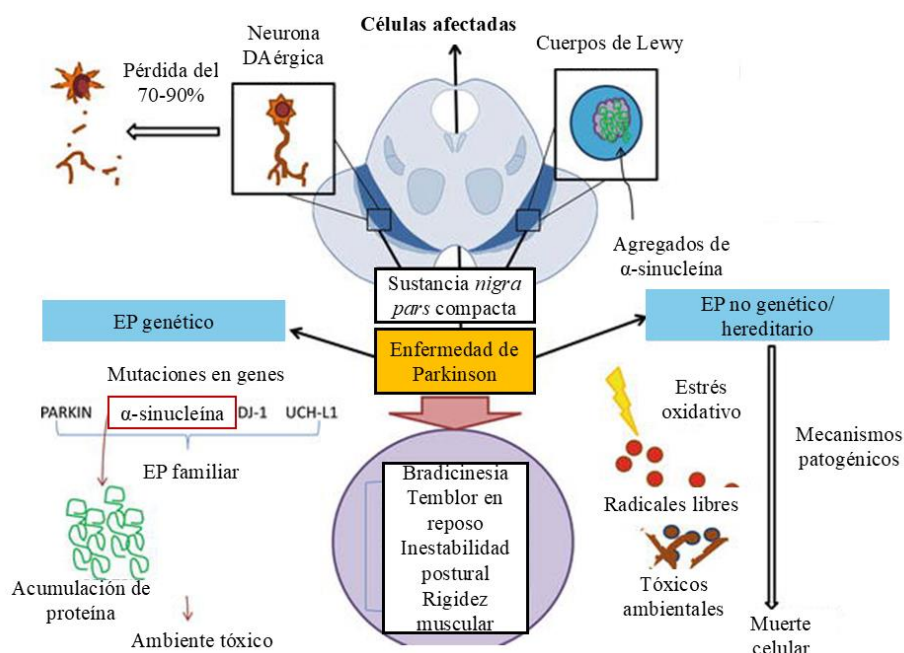


Figura 7. Fisiopatología de la EP. Se muestra la fisiopatología de la EP que incluye la degeneración de las neuronas DAérgicas que producen los síntomas motores de la enfermedad. Además, se muestran los factores que desencadenan la EP familiar y esporádica (Tomado y modificado de Ortiz *et al.*, 2017).

1.5.2 Terapéutica para la Enfermedad de Parkinson

La terapéutica para la EP se centra en mejorar los síntomas motores y no motores, además de detener, en la medida de lo posible, la progresión de la enfermedad. A lo largo de las últimas décadas, se han desarrollado diferentes estrategias farmacológicas, cuyo objetivo principal es restaurar el equilibrio dopaminérgico en los circuitos neuronales afectados (Pardo-Moreno *et al.*, 2023).

Los inhibidores de las enzimas metabolizadoras de dopamina como la MAO-B, la COMT y la DCAA, son otros agentes utilizados actualmente para normalizar la transmisión DAérgica. Entre los inhibidores de la MAO han demostrado aumentar los niveles de dopamina. Los inhibidores de la COMT ayudan a estabilizar los niveles de DA y a mejorar los problemas motores. Por otro lado, los agonistas de la DA tienen vidas medias más largas, lo que evita fluctuaciones rápidas en la estimulación de los receptores de DA y por lo tanto retarda la aparición de discinesias (Pires *et al.*, 2017).

El tratamiento fundamental es la administración oral de L-DOPA con un inhibidor de la DCAA como la benserazida y la carbidopa. Su función es prevenir la conversión periférica de L-DOPA en DA antes de llegar al cerebro, lo que mejora la eficacia de la L-DOPA. Además, evita los efectos secundarios no deseados, como náuseas, hipotensión y otros problemas relacionados con la dopamina en el sistema nervioso periférico (Iwaki *et al.*, 2015).

La levodopa, también llamada L-3,4-dihidroxitirfenilalanina (L-DOPA) es un producto químico, precursor metabólico de la DA, que se encuentra de manera natural en plantas y animales (Carretero, 2006). En los años 60 del siglo XX, el reemplazo farmacológico de la DA por su precursor endógeno L-DOPA fue un triunfo de la medicina moderna, pues se había encontrado un tratamiento eficaz para los síntomas principales de la EP (Cotzias *et al.*, 1967; Ovallath & Sulthana, 2017). A diferencia de la DA, la L-DOPA puede cruzar la barrera hematoencefálica (BHE), para convertirse en DA en el SNC, así como en la periferia (Figura 8).

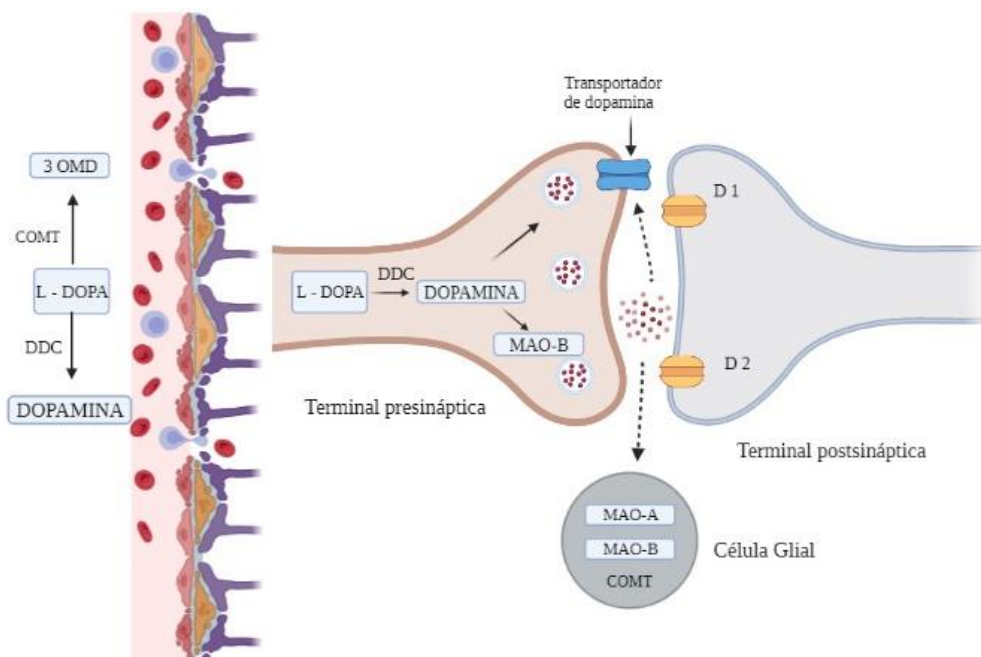


Figura 8. Mecanismo de acción de L-DOPA. Representación del mecanismo de acción de la L-DOPA; es una molécula capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, a partir de ella se sintetiza dopamina en la célula pre-sináptica la cual se libera a la hendidura sináptica para ejercer su efecto, la presencia de las enzimas MAO y COMT ayuda a regular la liberación de L-DOPA (Tomado y modificado de Riederer *et al.*, 2007).

La L-DOPA es hasta la fecha el tratamiento más eficaz para la EP, sin embargo, su uso a largo plazo provoca fluctuaciones motoras o discinesias definidas como movimientos involuntarios anormales que en un principio pueden ser leves, pero con el paso del tiempo pueden convertirse en un síntoma incluso más discapacitante que la propia enfermedad (Pandey & Srivanitchapoom, 2017).

1.6 Modelos animales Parkinsonianos

Los roedores se encuentran entre los modelos animales más populares utilizados en los grupos de investigación, dada la facilidad del manejo y cuidado requeridos. Las ratas o ratones son ampliamente utilizados para modelar la EP debido a la correlación entre el déficit motor y la degeneración neuronal dopaminérgica en la SNpc. En estos animales, la EP puede ser inducida farmacológicamente, o a través de manipulación genética específica (Khan *et al.*, 2023).

Se ha descubierto que algunos análogos estructurales de la dopamina, como la 6-hidroxidopamina (6-OHDA) y el MPTP, podrían lesionar selectivamente las neuronas dopaminérgicas e inducir fenotipos similares a la EP (Zeng *et al.*, 2018). El MPTP es uno de los neurotóxicos más utilizados para inducir degeneración neuronal en ratones. Esta toxina atraviesa la BHE y, una vez en el cerebro, es metabolizada por la enzima MAO-B en el ion MPP⁺. El MPP⁺ es luego transportado a las neuronas DAérgicas a través del DAT. Una vez dentro de las neuronas, el MPP⁺ ejerce su toxicidad inhibiendo el complejo I de la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias (Figura 9), lo que conduce a una disminución en la producción de ATP y a la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), causando daño neuronal (Zeng *et al.*, 2018).

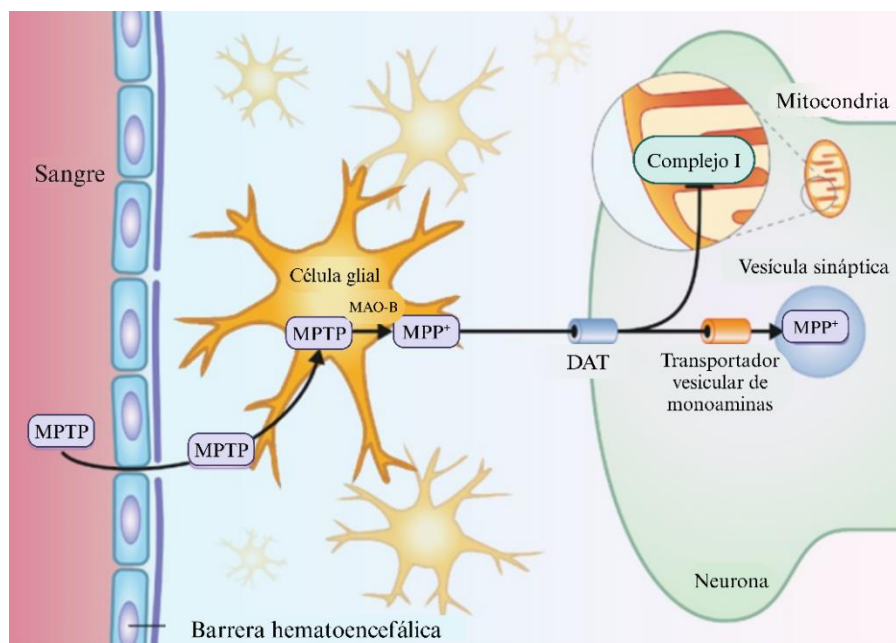


Figura 9. Mecanismo de acción del MPTP. El MPTP atraviesa la barrera hematoencefálica y es metabolizado por la MAO-B, presente en las células gliales. El MPTP es oxidado a MPP⁺, que luego es captado a través del DAT. Dentro de las neuronas el efecto tóxico consiste en el bloqueo del complejo I mitocondrial, lo que resulta en una menor producción de ATP y favorece la formación de radicales libres (Tomado y modificado de Philippens, 2017).

La 6-OHDA es una neurotoxina con una estructura química similar a la DA que puede destruir selectivamente las neuronas DAérgicas. La rata o el ratón lesionado con 6-OHDA proporciona un modelo permanente de disminución de la actividad dopaminérgica selectivo a la vía nigroestriatal, el área predominantemente afectada en la EP. Debido a que la 6-OHDA es una molécula hidrofílica, es incapaz de atravesar la BHE, por lo que su administración se realiza de manera local en el cerebro. La administración de 6-OHDA suele realizarse de forma unilateral ya que una lesión bilateral puede provocar bradicinesia, afagia o adipsias significativas, lo que hace que la alimentación por sonda sea necesaria para mantener el bienestar y la supervivencia de los animales (Ungerstedt, 1971; Zeng *et al.*, 2018).

Para modelar las condiciones de la EP, la 6-OHDA puede ser administrada en la SNpc o en el HPM para producir una lesión casi completa de las neuronas dopaminérgicas comparable a una EP de fase tardía. La administración de 6-OHDA en el estriado puede estudiarse como una etapa temprana de la EP ya que conduce a una degeneración más progresiva de las neuronas de DA, pues el daño que induce es retrógrado y menos extenso.

En roedores, la denervación axonal se observa después de 3 horas de la administración de 6-OHDA en el estriado, mientras que la reducción en el número de neuronas positivas para tirosina hidroxilasa en la SNpc se retrasa varios días después. Sin embargo, el efecto de la lesión intraestriatal depende de la dosis y el sitio de lesión, una dosis única administrada en un solo sitio del estriado causa una reducción del 80% en la innervación estriatal y una pérdida cercana al 90% de la población dopaminérgica nigral (Dovonou *et al.*, 2023; Kirik *et al.*, 1998).

Después de su administración, la 6-OHDA se une al transportador DAT. Una vez dentro de las neuronas, induce la degeneración neuronal mediante una combinación de estrés oxidativo y disfunción mitocondrial. La 6-OHDA se oxida fácilmente, generando H₂O₂, aumentando la producción de ROS e inhibiendo la producción de enzimas antioxidantes. La falta de antioxidantes permite la peroxidación de lípidos, proteínas y ADN. La producción de ROS se ve potenciada por el Fe²⁺ a través de la reacción de Fenton. En la SNpc, los niveles de hierro aumentan e interactúan directamente con los complejos I y IV de la cadena respiratoria mitocondrial, lo que provoca la reducción del potencial de la membrana mitocondrial comprometiendo la respiración celular y agravando el estrés oxidativo (He *et al.*, 2024; Duty & Jenner, 2011) (Figura 10).

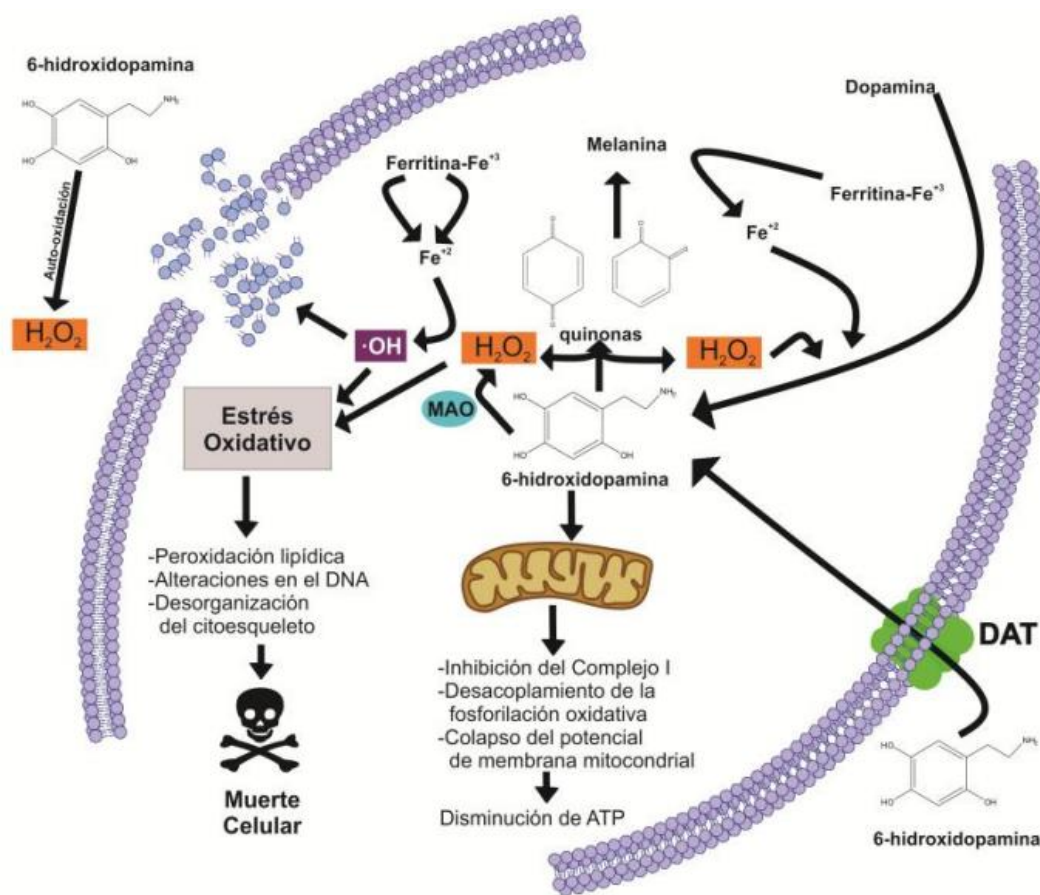


Figura 10. Mecanismo tóxico de 6-OHDA. Se muestra un esquema del daño neuronal que ejerce la 6-OHDA a través de la auto-oxidación, generación de ROS, y daño a los complejos mitocondriales que induce la muerte celular (Tomado de Blum *et al.*, 2001).

1.7 Discinesias inducidas por L-DOPA

Las discinesias inducidas por L-DOPA (LIDs) se refieren a movimientos involuntarios anormales que ocurren después de un tratamiento prolongado con L-DOPA. Se estima que tras 4-6 años de tratamiento con levodopa existe un 40% de probabilidad de desarrollar fluctuaciones motoras y discinesias, otros estudios han demostrado que el porcentaje de pacientes con LID a los 5 años de tratamiento va de 10-60% e incluso ha llegado al 80% (Kulisevsky *et al.*, 2013). Existen factores de riesgo para presentar discinesias, los cuales son el desarrollo de la enfermedad a temprana edad, las dosis de L-DOPA utilizadas y la severidad de la EP (Manson *et al.*, 2012).

En la última década, el modelo de rata lesionada con 6-OHDA ha sido ampliamente utilizado para estudiar las LIDs. La administración repetida de L-DOPA en estos modelos provoca discinesias que afectan principalmente al lado del cuerpo contralateral al estriado denervado. Estas discinesias se clasifican según su distribución topográfica, duración y amplitud. Las discinesias en ratas suelen manifestarse como movimientos repetitivos de la extremidad anterior contralateral a la lesión, torsiones o rotaciones laterales del tronco y el cuello hacia el lado contralateral a la lesión, así como movimientos orofaciales y masticatorios, acompañados de protrusión de la lengua y temblor mandibular (Pandey & Srivanthapoom, 2017). La cantidad y el período de exposición al fármaco juegan un papel crucial en el desarrollo de la discinesia (Winkler et al., 2002).

Varios factores de riesgo, como el grado de neurodegeneración dopaminérgica, juegan un papel en el desarrollo de las LIDs en ratas lesionadas con 6-OHDA. En general, se requieren pocos días de inyecciones de L-DOPA para inducir discinesias, especialmente cuando la degeneración neuronal es extensa. Sin embargo, en casos de lesiones dopaminérgicas parciales, son necesarias dosis más altas o repetidas de L-DOPA para generar discinesias significativas (Tronci & Francardo, 2018).

El mecanismo de las LIDs no se entiende claramente, sin embargo, están asociadas con cambios pre y postsinápticos que dan lugar a un desequilibrio dopaminérgico. La discinesia se asocia con una serie de eventos que incluyen una estimulación de los receptores de DA y anomalías en la transmisión no DAérgica, además se ha encontrado que el daño continuo de las neuronas DAérgicas nigrales produce deformidades en la conexión de la corteza motora y el cuerpo estriado y crea una alteración funcional en los ganglios basales, lo que puede conducir a la generación de las LIDs (Bandopadhyay et al., 2022).

La DA es almacenada en vesículas sinápticas y liberada cuando es necesario. Los auto-receptores y el DAT mantienen las concentraciones de DA extracelulares para que se mantengan siempre en un rango fisiológico. Sin embargo, la pérdida severa de terminales dopaminérgicas en el estriado dorsal crea una incapacidad para almacenar dopamina, por lo que la mayor parte de la síntesis de DA se produce en las neuronas serotoninérgicas, sin embargo, las neuronas serotoninérgicas no pueden modular la liberación de DA, lo que

resulta en la fluctuación de los niveles de DA en las hendiduras sinápticas. Además, la denervación DAérgica en el cuerpo estriado dorsolateral conduce a una supersensibilidad de los receptores de DA en el cuerpo estriado, lo que estimula fuertemente la vía de señalización del AMPc y la vía de la fosfoproteína neuronal regulada por DA y AMPc (DARPP-32). También se activan otras cascadas de señalización, como la cinasa activada por mitógenos (ERK) y el objetivo de rapamicina en mamíferos (mTOR). Estas vías regulan la transcripción génica y la síntesis de proteínas, que contribuyen a la generación de LID. La señalización de PKA/DARPP-32 y/o ERK/MSK1 migra al núcleo, conduce a la fosforilación de CREB/histona H3 y aumenta la expresión de genes tempranos inmediatos que contribuyen al desarrollo de LIDs. (Kwon *et al.*, 2022) (Figura 11).

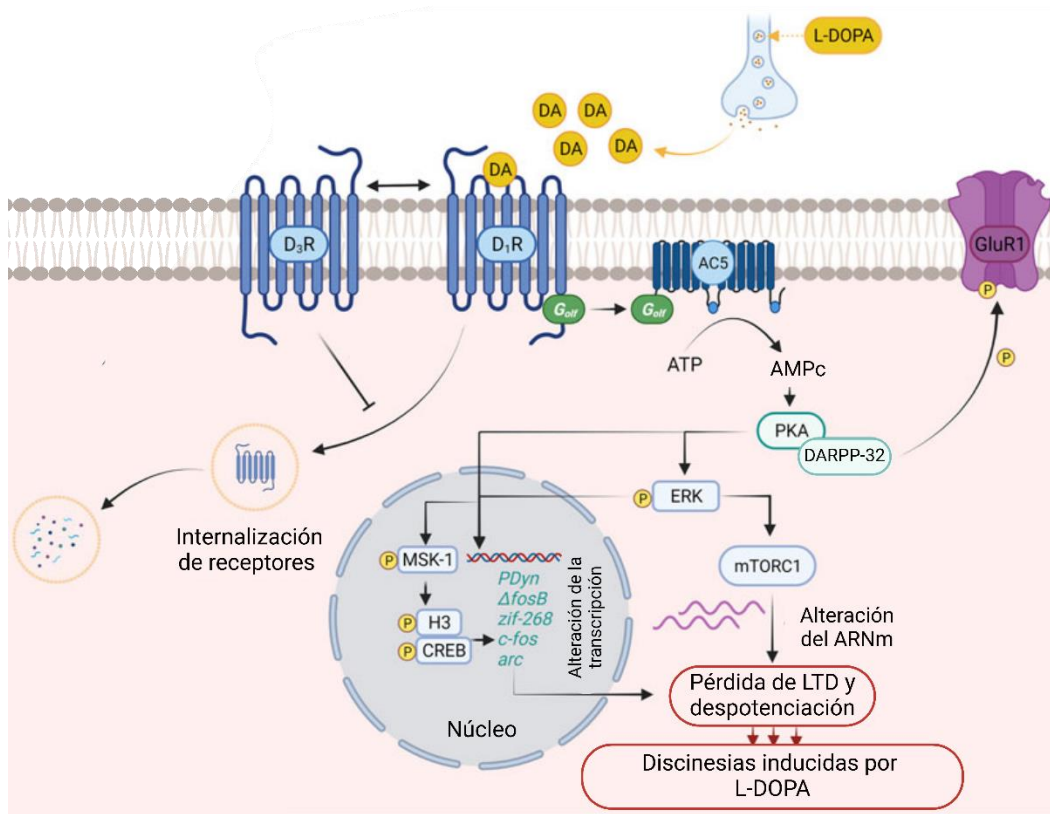


Figura 11. Mecanismo molecular de las LID. Existe una sobreactivación del receptor D1 de las NEMd provocando mayor producción de AMPc que activa diferentes vías asociadas a LID, una de las vías implicadas es ERK que potencia los procesos de transcripción y traducción de genes como ΔFosB, un gen implicado en la aparición de LID (Tomado y modificado de Bandopadhyay *et al.*, 2022).

Los estudios indican que la administración intermitente de L-DOPA causa fluctuaciones en los receptores DA en el cuerpo estriado, lo que conduce a un desequilibrio en las funciones del sistema glutamatérgico, serotoninérgico y adrenérgico y en la transducción de señales (Zheng *et al.*, 2021).

En el circuito de los GB, existe un desequilibrio entre las vías directas e indirectas, en las LIDs aumenta la concentración de DA en el cuerpo estriado, lo que incrementa la actividad de la vía directa mediante la estimulación del receptor D1, la vía indirecta se inhibe a través de la activación del receptor D2. El resultado global de estas acciones disminuye la actividad de los GB e induce las discinesias (Yang *et al.*, 2021).

La participación de los receptores D2 en las LIDs sigue sin conocerse por completo. Debido a su ubicación presináptica se cree que su señalización está involucrada en procesos más complejos. Los estudios farmacológicos muestran que los agonistas selectivos similares a D1 tienen efectos discinetogénicos más potentes que los agonistas similares a D2. Se realizó un estudio con ratones knockouts D1 con denervación dopaminérgica severa inducida por 6-OHDA y se observa que las LID están completamente bloqueadas. Los knockouts D2 desarrollaron LID al igual que los grupos controles; el hecho de que los knockout de D1 no muestren LID sugiere que la estimulación del receptor es esencial para el desarrollo de discinesias (Darmopil *et al.*, 2009).

Entre los cambios moleculares asociados con las LIDs, se ha identificado la sobreexpresión de FosB/ Δ FosB, un factor de transcripción relacionado con la plasticidad neuronal y la inducción de las LIDs. Estudios previos han evaluado la expresión de FosB/ Δ FosB en modelos con lesión en la vía dopaminérgica tratados con L-DOPA a diferentes dosis (6, 10 y 25 mg/kg), encontrando que cuanto más graves son las discinesias ocasionadas por la L-DOPA, hay una mayor expresión de FosB. Estos hallazgos refuerzan la importancia de FosB/ Δ FosB como un posible biomarcador de las discinesias y su potencial papel en la plasticidad neuronal inducida por L-DOPA (Palafox-Sánchez *et al.*, 2016)

II. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, la L-DOPA continúa siendo el tratamiento más utilizado en la enfermedad de Parkinson debido a su capacidad para aliviar los síntomas motores y mejorar la calidad de vida de los pacientes. Sin embargo, su uso prolongado y las altas dosis necesarias para controlar los síntomas pueden dar lugar a efectos secundarios, como las discinesias. Estas complicaciones motoras representan un reto en el tratamiento de la enfermedad, ya que pueden afectar la capacidad funcional del paciente (Alberico *et al.*, 2017).

La causa subyacente de las LIDs sigue siendo un fenómeno poco comprendido y la mayoría de las investigaciones se centran en etapas avanzadas de la enfermedad de Parkinson, cuando las LIDs ya están establecidas y son más difíciles de tratar. Sin embargo, es fundamental comprender los mecanismos subyacentes desde las etapas tempranas de la enfermedad.

Hasta la fecha no se han estudiado las LIDs a través de un modelo de lesión temprano y se desconoce el papel del estriado en la inducción de las LIDs, sin embargo, el presente trabajo tiene como objetivo estudiar la relación entre el núcleo estriado, especialmente la región dorsolateral, y la aparición de los movimientos involuntarios anormales en etapas iniciales de la enfermedad.

III. HIPÓTESIS

La administración crónica de L-DOPA induce discinesias de baja intensidad, provoca cambios en la citoarquitectura del estriado y en la expresión de la tirosina hidroxilasa en ratas lesionadas unilateralmente con 6-OHDA en el estriado dorsolateral.

IV. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

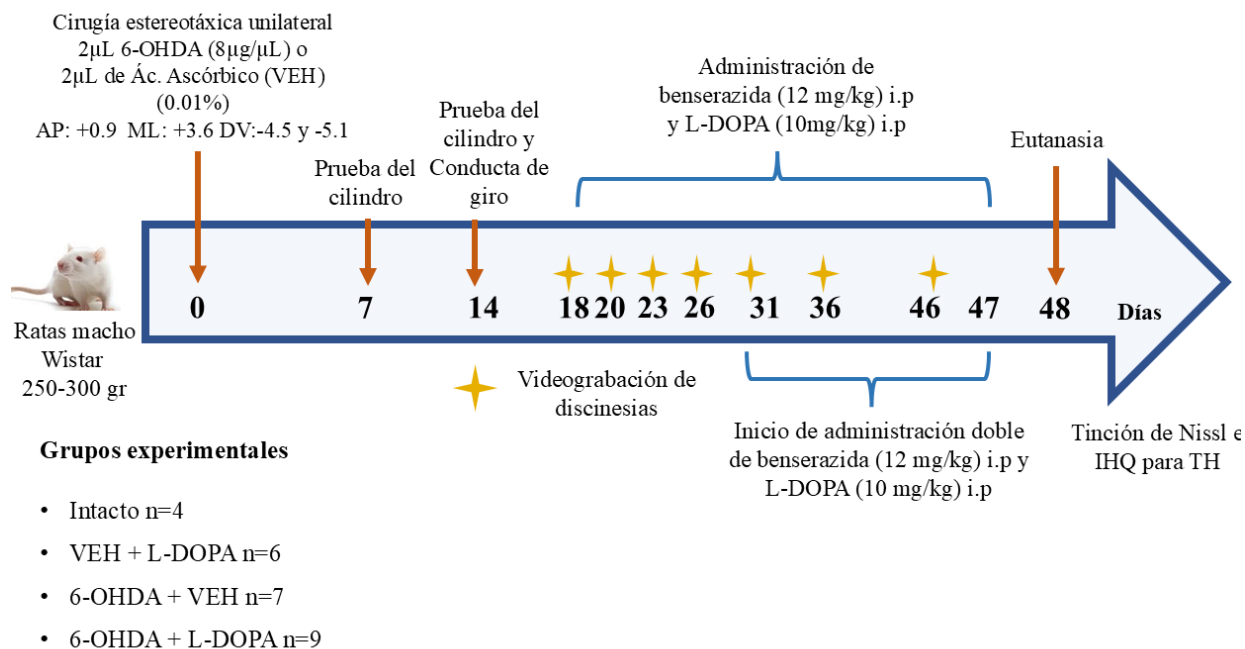
Evaluar la intensidad de las discinesias, los cambios en la citoarquitectura del estriado y la expresión de la tirosina hidroxilasa producidos por el tratamiento crónico con L-DOPA en ratas lesionadas con 6-OHDA en el estriado dorsolateral.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la asimetría motora en ratas lesionadas unilateralmente con 6-OHDA en el estriado dorsolateral.
- Evaluar la intensidad de las discinesias inducidas por la administración crónica de L-DOPA en ratas lesionadas unilateralmente con 6-OHDA en el estriado dorsolateral.
- Evaluar la citoarquitectura del estriado y la expresión de la tirosina hidroxilasa en ratas con administración crónica de L-DOPA y lesionadas unilateralmente con 6-OHDA en el estriado dorsolateral.

V. METODOLOGÍA

5.1 Diagrama de trabajo



5.2 Sujetos de experimentación

Se utilizaron 26 ratas macho de la cepa Wistar con un rango de peso de 250-300 g, proporcionadas por el Bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los animales se mantuvieron en condiciones controladas con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas, a temperatura de 22°C y libre acceso al agua y alimento de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999 y el CICUAL-BUAP.

5.3 Cirugía estereotáxica

Todos los animales fueron anestesiados con ketamina/xilazina (75:10 mg/kg) vía intraperitoneal (i.p). Una vez anestesiada la rata se colocó en el aparato estereotáxico para roedores pequeños para localizar bregma y de acuerdo con el atlas de Paxinos y Watson (1998) se consideraron las coordenadas de ubicación del estriado dorsolateral: AP: +0.9, ML: +3.6, DV₁: -4.5 y DV₂: -5.1.

Se administraron en total 2µL de 6-OHDA o su vehículo (ácido ascórbico [0.01%]) en el lado izquierdo del estriado. Primero se administró 1µL de 6-OHDA o el vehículo a una velocidad de 0.2µL/min en la primera coordenada dorsoventral. Se permitió la difusión durante 3 minutos y posteriormente se inyectó 1µL más de 6-OHDA o el vehículo en la segunda coordenada dorsoventral. Se utilizó una jeringa Hamilton y una bomba de infusión (Harvard Apparatus Nanomite). Todos los animales se mantuvieron durante 3 días con cuidados postoperatorios.

5.4 Prueba del cilindro

La prueba del cilindro fue propuesta por Schallert y Tillerson en 1999, este modelo se utilizó para evaluar la asimetría motora en ratas con lesión dopaminérgica inducida por neurotoxinas. Debido a que la 6-OHDA provoca un daño progresivo los animales fueron evaluados al día 7 y 14 post-cirugía. La prueba consistió en colocar a cada rata en un cilindro de acrílico de 30 cm de alto y 20 cm de diámetro, cada rata fue videograbada durante cinco minutos y se cuantificó el número de toques que realizó el animal con ambas extremidades anteriores, con la extremidad derecha y con la extremidad izquierda en la pared del cilindro. Los resultados se expresan en porcentaje de acuerdo con las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ uso de ambas patas} = \frac{\# \text{toques con ambas patas}}{\# \text{toques con ambas patas} + \# \text{toques ipsilaterales} + \# \text{toques contralaterales}} \times 100$$

$$\% \text{ uso de pata ipsilateral a la inyección} = \frac{\# \text{toques ipsilaterales} + \left(\frac{1}{2}\right) \text{toques ambas patas}}{\# \text{total de toques}} \times 100$$

Los resultados se graficaron como el porcentaje de uso de la extremidad ipsilateral y de ambas extremidades en los diferentes días de evaluación.

5.5 Conducta de giro

La conducta de giro propuesta por Ungerstedt *et al.*, en 1971, es un modelo para evaluar el grado de lesión dopaminérgica inducida por fármacos; se evaluó a los 14 días post-lesión utilizando anfetamina (5 mg/kg) s.c, se cuantificó el número de giros ipsilaterales

durante 120 minutos posteriores a la administración. Los resultados se graficaron como el número de giros por periodos de 10 minutos. Únicamente se tomaron en cuenta los animales que presentaron 14 giros por minuto o más para someterlas al tratamiento con L-DOPA.

5.6 Tratamiento con L-DOPA

Para inducir discinesias se utilizó L-DOPA metil éster (Sigma-Aldrich) disuelta en solución salina isotónica (SSI). Veinte minutos antes de la administración de L-DOPA (10mg/kg) i.p se inyectó benserazida (12 mg/kg) i.p, un fármaco que inhibe la actividad de la enzima MAO y por lo tanto se evita la degradación de L-DOPA a nivel periférico para evitar los efectos secundarios y para que más L-DOPA llegué a nivel central (Figura 12). El tratamiento consistió en una administración diaria durante 13 días, posteriormente se realizaron dos administraciones diarias (9:00 y 17:00 hrs) por 17 días más (Dos-Santos-Pereira *et al.*, 2016).

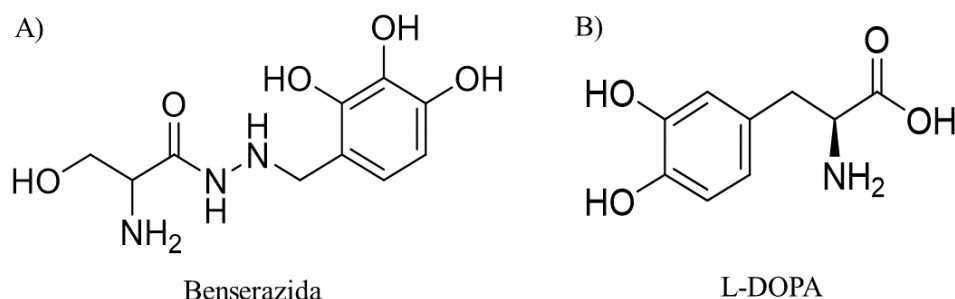


Figura 12. Estructura química de benserazida y levodopa. En A) se muestra la molécula de benserazida. En B) se muestra la molécula de L-DOPA; ambos fármacos son utilizados en modelos animales de la EP.

5.7 Videograbación de las discinesias

Después de la administración de benserazida y L-DOPA, se videograbaron los animales los días 18, 20, 23, 26, 31, 36 y 46 post-lesión. Las ratas fueron colocadas en un cilindro de acrílico y se videograbaron los movimientos de los animales durante 1 minuto cada 20 minutos hasta completar 2 horas después de la administración. Se obtuvieron 7 grabaciones de un minuto por cada animal por día.

5.8 Cuantificación de las discinesias

Para cuantificar las discinesias se analizaron los videos con el fin de identificar cada tipo de movimiento realizado por el animal: movimiento axial, del miembro anterior y orolingual (Figura 13). Se asignó un puntaje de 0-4 que se obtuvo de acuerdo con la frecuencia de aparición de cada movimiento como se muestra en la Tabla 1. Se obtuvieron siete puntajes de cada movimiento (un puntaje de cada video obtenido) por cada rata, para graficar se realizó la sumatoria de los siete valores por cada tipo de discinesia.

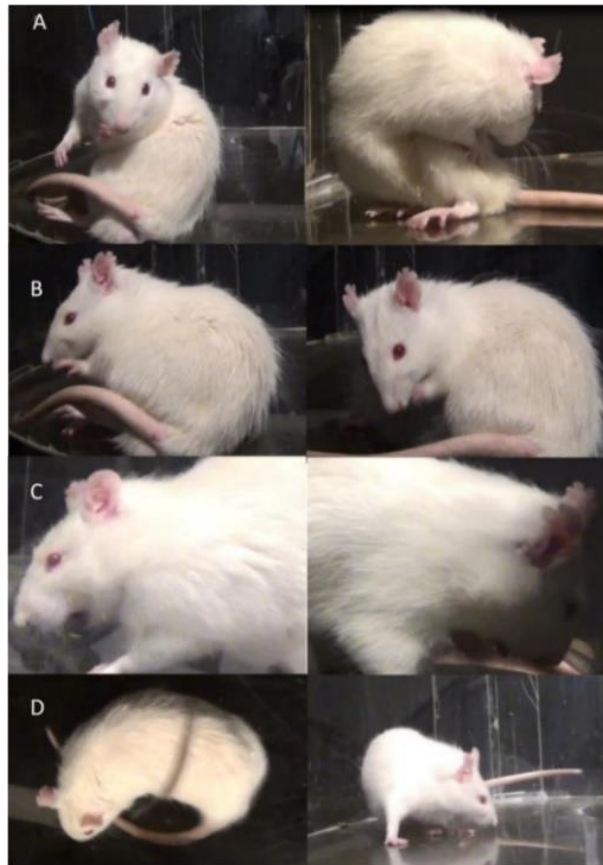


Figura 13. Discinesias en ratas. Se observan las discinesias inducidas por levodopa cuando se lesionan las vías nigroestriatales. En A) discinesia axial, B) discinesia del miembro anterior, C) discinesia orolingual y D) giro contralateral. (Tomado de Sebastianutto *et al.*, 2016).

Tabla 1. Escala de severidad de las discinesias. Se muestran los tipos de discinesias que se cuantificaron y el puntaje que le corresponde a cada una de estas. (Tomado y modificado de Winkler *et al.*, 2002).

ESCALA PARA LA EVALUACIÓN DE DISCINESIAS		
Tipo de discinesia	Descripción	Puntaje
Movimiento axial: flexión lateral de la cabeza, el cuello y tronco hacia el lado contralateral a la lesión	Ausente	0
	Giro contralateral del tronco en una posición erguida	1
	Flexión contralateral del cuello acompañado de una torsión del tronco en una posición erguida.	2
	Flexión continua del cuello acompañado de una torsión del tronco en una posición erguida.	3
	Flexión continua del cuello acompañado de una torsión del tronco con pérdida del balance postural.	4
Movimiento del miembro anterior: movimientos bruscos, repetitivos y postura distónica de la extremidad anterior contralateral a la lesión	Ausente	0
	De forma ocasional se presentan movimientos bruscos de la extremidad.	1
	De forma frecuente se presentan movimientos repetitivos de la extremidad.	2
	De forma continua se presentan movimientos repetitivos y distónicos con alguna interrupción.	3
	De forma continua se presentan movimientos repetitivos y distónicos sin ninguna interrupción.	4
Movimiento orolingual: movimientos repetitivos de la mandíbula y la lengua, pueden ser bilaterales.	Ausente	0
	Movimientos ocasionales de la mandíbula.	1
	Movimientos frecuentes de la mandíbula.	2
	Movimientos continuos de la mandíbula.	3
	Movimientos repetitivos de la lengua y la mandíbula.	4

5.9 Procesamiento de los tejidos: Tinción de Nissl

La técnica de Nissl se utilizó para estudiar y comprender la citoarquitectura de las células nerviosas de diferentes áreas cerebrales. Esta tinción utiliza un colorante catiónico que va a reaccionar en un medio ácido, por lo tanto, pueden unirse al contenido del ADN y del ARN tiñendo ribosomas, retículo endoplásmico rugoso y núcleos (Gong *et al.*, 2007).

Al día siguiente de la última administración de L-DOPA se realizó la eutanasia de los animales por sobredosis de pentobarbital sódico (100mg/kg) i.p y se realizó una perfusión intracardiaca con buffer de fosfatos (PBS 1X) (pH=7.4) y paraformaldehído (PFA) al 4% (pH=7.4). Los cerebros fueron almacenados en PFA. Se realizaron cortes coronales de 50 μm en un vibratomo (Leica VT1000S). Se tomaron tres cortes por cerebro del estriado dorsolateral.

Para la tinción de Nissl, se realizaron tres lavados con PBS, cada uno de cinco minutos. A continuación, los cortes se montaron en portaobjetos previamente rotulados y se dejaron secar durante 40 minutos. Después, se aplicó azul de cresilo sobre los tejidos de manera que se cubriera todo el tejido y se dejó reposar durante cinco minutos. Pasado ese tiempo, se enjuagaron con agua destilada y se dejaron reposar durante cinco minutos adicionales. A continuación, las laminillas se colocaron en un tren de tinción, donde los tejidos se sumergieron en alcohol al 100% durante dos minutos, luego en una mezcla de alcohol al 50% y xilol al 50% durante otros dos minutos, y finalmente en xilol al 100% durante cinco minutos. Para finalizar, sin permitir que el xilol se seicara, los cortes se fijaron con resina Entellan y un cubreobjetos. Luego se dejaron secar durante dos días a temperatura ambiente.

En la Figura 14 se observa un corte de encéfalo de rata en la región del estriado con tinción de Nissl, donde se ve la citoarquitectura de las células estriatales sanas, con somas bien definidos, el núcleo y nucleolo teñido con forma redondeada.

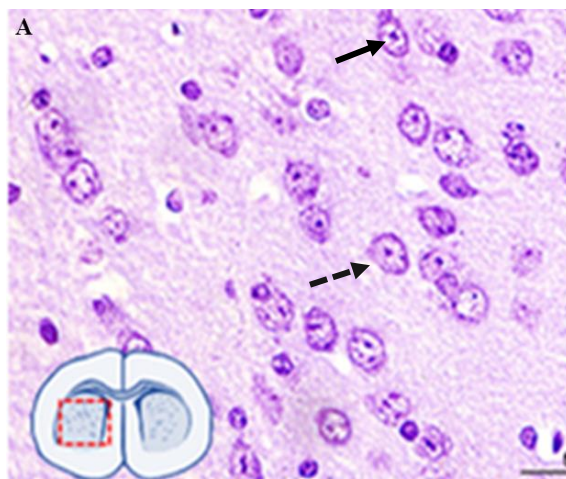


Figura 14. Tinción de Nissl en el estriado. En A se muestra una microfotografía del estriado utilizando violeta de cresilo (400x) donde se observa la citoarquitectura celular de ratas intactas. La flecha negra señala el núcleo de la célula y la flecha discontinua marca el nucleolo (Tomado de Mazumder *et al.*, 2019).

Los cortes se examinaron por microscopía de campo claro con un microscopio Leica[®] DM750 con los objetivos 20x, 40x y 100x, las imágenes obtenidas fueron tomadas con una cámara para microscopio ProgRes C14 plus. Para el análisis de los cortes histológicos se examinó el estriado dorsolateral.

5.9.1 Procesamiento de los tejidos: Inmunohistoquímica para Tirosina hidroxilasa

Se seleccionaron cuatro cortes de SNpc y cuatro cortes de estriado por rata. Los cortes se colocaron en una placa de 24 pozos y se realizaron tres lavados con PBS-Tritón al 0.2% durante 10 minutos cada uno. Luego se incubaron con PBS-Tritón y H₂O₂ al 3% durante 10 minutos para eliminar la peroxidasa endógena. Posteriormente, se enjuagaron tres veces con PBS-Tritón durante 10 minutos cada uno. Para bloquear sitios inespecíficos al anticuerpo de interés se incubaron los cortes en albúmina durante una hora. Posteriormente se realizaron tres lavados más con PBS-Tritón cada uno durante 10 minutos y se dejaron incubar con anticuerpo primario Anti-TH (Millipore 1:1000) durante dos noches.

Se realizaron tres lavados con PBS-Tritón cada uno de 10 minutos y se dejaron incubar con anticuerpo secundario biotinilado Anti-mouse (1:200) durante dos horas. Transcurrido el tiempo se realizaron tres lavados con PBS-Tritón durante 10 minutos cada uno y se incubaron en estreptavidina (1:500) durante hora y media. Se realizaron tres lavados

con PBS solo durante 10 minutos cada uno y se montaron los cortes en un portaobjetos previamente rotulado. Se realizó el revelado con diaminobenzidina (Sigma-Aldrich) (50mg/100mL) colocando 50 μ L por tejido y se dejó cinco minutos. Posteriormente los cortes se enjuagaron con PBS y se dejaron secar durante una noche.

Para los cortes de la SNpc, se realizó una contratinción utilizando el método de Nissl para proporcionar un contraste visual y distinguir las diferentes células, modificando únicamente el tiempo de coloración a 15 segundos. En los cortes del estriado, se llevó a cabo una deshidratación en alcoholes al 70%, 80% y 100%, seguida de xilol durante dos minutos cada uno, se añadió resina y se dejó secar durante dos noches. Finalmente, las muestras se observaron bajo un microscopio Leica[®] DM750 con los objetivos de 4x, 40x y 100x.

5.10 Análisis estadístico

- Los datos obtenidos para la prueba del cilindro se realizaron con una ANOVA de una vía y un post-test Tukey.
- Los datos obtenidos para la conducta de giro se realizaron con una ANOVA de dos vías y una prueba post-test Bonferroni
- Los datos obtenidos para las discinesias se realizaron con ANOVA de dos vías y una prueba post-test Tukey.

VI. RESULTADOS

6.1 Localización del sitio de lesión en el estriado dorsolateral

Se lesionó el estriado dorsolateral, donde se encuentran las terminales de las neuronas dopaminérgicas provenientes de la SNpc. Para localizarlo se realizó una microinyección con azul de metileno tomando como referencia el atlas de Paxinos y Watson (1998). En la Figura 14A se observa un corte coronal de cerebro de rata, en rojo se encierra el sitio donde se inyectó azul de metileno para la comprobación de las coordenadas (AP: +0.9, ML: +3.6, DV₁: -4.5 y DV₂: -5.1). En la Figura 15B se observa un esquema y en color azul la ubicación del sitio de lesión.

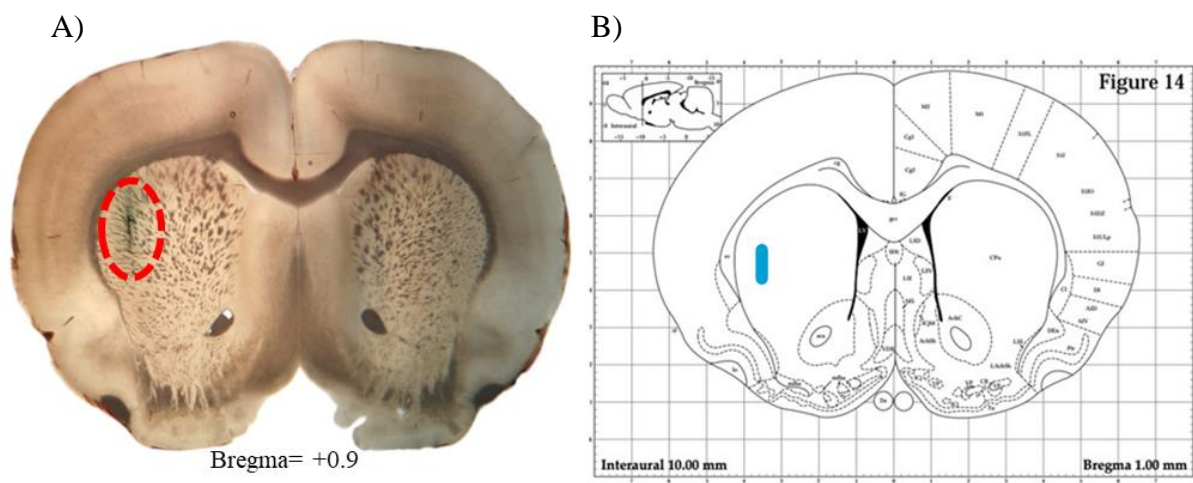


Figura 15. Lesión dopaminérgica con 6-OHDA. En A) se muestra un corte coronal de cerebro de rata donde se observa el trayecto de la cánula encerrado en color rojo y la inyección con azul de metileno. En B) se muestra en color azul el sitio donde se administró el azul de metileno, que es la zona de interés (Tomado y modificado de Paxinos y Watson, 1998).

6.2 Efecto de la administración de 6-OHDA en el estriado dorsolateral sobre la asimetría motora

La lesión del estriado dorsolateral mediante el uso de 6-OHDA conduce a la muerte progresiva de las neuronas dopaminérgicas. La prueba del cilindro se emplea para medir el uso espontáneo de las extremidades anteriores y evaluar la función motora en un modelo de Parkinson que produce asimetría motora (Figura 16A).

En la Figura 16B, se muestra el porcentaje de uso de ambas extremidades anteriores en los días 7 y 14 posteriores a la cirugía. El grupo vehículo presentó un porcentaje de uso de 60% al primer día de evaluación; pero a pesar de que hubo una disminución del uso de ambas extremidades al día 14 los resultados no fueron significativos.

Se encontró una reducción significativa del uso de ambas extremidades entre el grupo de vehículo en el día 7 respecto al grupo lesionado en el día 14 ($p < 0.01$). Además, se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos al día 7 ($p < 0.05$).

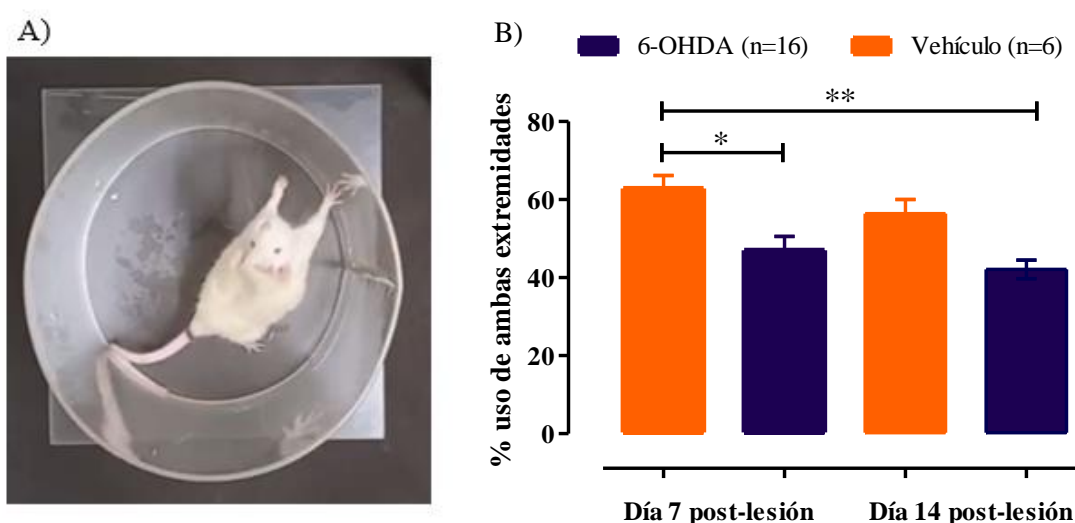


Figura 16. La inyección de 6-OHDA en el estriado induce asimetría motora. En A) se observa a la rata durante la prueba de cilindro, donde apoya únicamente la extremidad derecha. En B) se muestra el porcentaje de uso de ambas extremidades al día 7 y 14 post-lesión, encontrando una disminución del uso de ambas extremidades para explorar el cilindro. Se realizó ANOVA de una vía y prueba Tukey, * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$. 6-OHDA (n=16); Vehículo (n=6).

Debido a que los animales con lesión provocada por 6-OHDA presentan mayor movilidad en la extremidad ipsilateral a la lesión se graficó el porcentaje de uso de la extremidad ipsilateral (Figura 17). Los resultados muestran al día 7 un aumento muy en el uso de la extremidad ipsilateral en el grupo lesionado respecto al vehículo (68.16% y 49.17% respectivamente). Además, se encontraron diferencias altamente significativas del grupo vehículo del día 7 con el grupo lesionado en el día 14, lo que corrobora el daño dopaminérgico ocasionado.

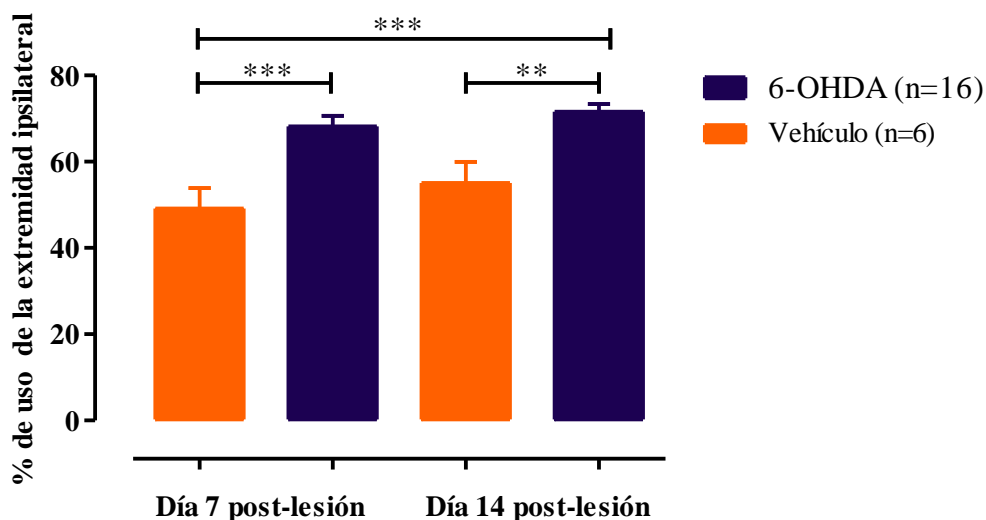


Figura 17. El porcentaje de uso de la extremidad ipsilateral disminuye conforme transcurre el tiempo. Se graficó el porcentaje de uso de la extremidad ipsilateral a la lesión, corroborando que hay un daño dopaminérgico debido al aumento del uso del día 7 al día 14. Se realizó ANOVA de una vía y prueba Tukey. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. 6-OHDA (n=16); Vehículo (n=6).

Para comprobar el daño dopaminérgico, se llevó a cabo una prueba inducida por fármacos, 14 días después de la lesión. Se empleó la prueba de giro inducida por amfetamina (5 mg/kg) s.c que cuando se presenta, nos indica el desequilibrio en la liberación de dopamina en el cuerpo estriado.

En la Figura 18 se representa cómo los animales del grupo lesionado con 6-OHDA comenzaron a experimentar giros a los 20 minutos después de la administración de amfetamina, alcanzando un máximo en el minuto 40 con un promedio de 17 giros por minuto. Además, se encontraron diferencias significativas desde el minuto 40 al 80 respecto al grupo vehículo. Luego, la cantidad de giros ipsilaterales disminuyó gradualmente hasta llegar a 8 en el minuto 120.

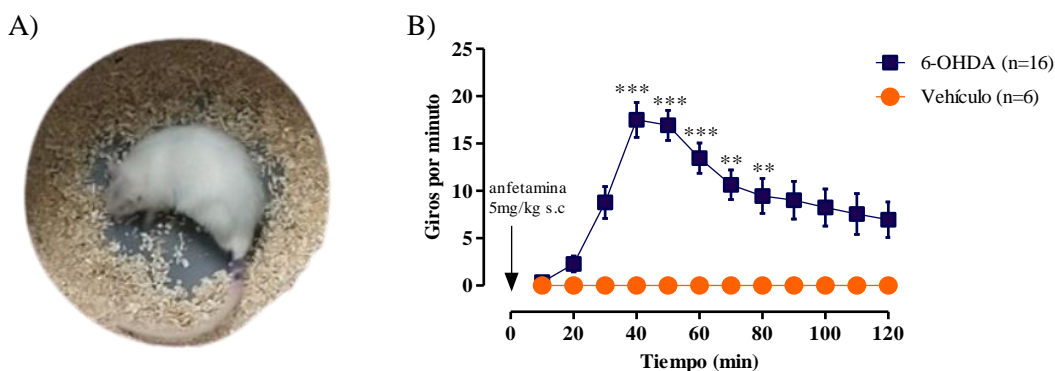


Figura 18. La 6-OHDA produjo depleción en la conducta de giro. En A) se observa una rata realizando vueltas hacia el lado ipsilateral a la lesión producidas por la amfetamina. En B) la gráfica que muestra el promedio de giros por cada 10 minutos. Se realizó ANOVA de dos vías y una prueba post-test Bonferroni. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. 6-OHDA (n=16); Vehículo (n=6).

6.3 Efecto de la administración crónica de L-DOPA sobre las discinesias

Después de comprobar la lesión dopaminérgica, las ratas fueron tratadas crónicamente con L-DOPA (10mg/kg) i.p y benserazida (12mg/kg) i.p por 30 días y se cuantificaron las discinesias durante 7 días a lo largo del tratamiento.

A pesar de la administración crónica con L-DOPA, las ratas no presentaron discinesias de tipo axial, del miembro anterior, ni giros contralaterales.

Se realizó la sumatoria de los puntajes obtenidos por día y por movimiento, los resultados muestran que los movimientos axiales se presentaron con poca frecuencia y en baja intensidad sin tener un patrón. Los movimientos del miembro anterior se presentaron a partir del cuarto día de grabación, sin embargo, no se observaron movimientos con alta frecuencia. El tipo de movimiento con mayor puntuación son los orolinguales ya que se encontraron diferencias significativas pues a partir del día 5 que fueron en aumento hasta el último día obteniendo 7 puntos (Figura 19).

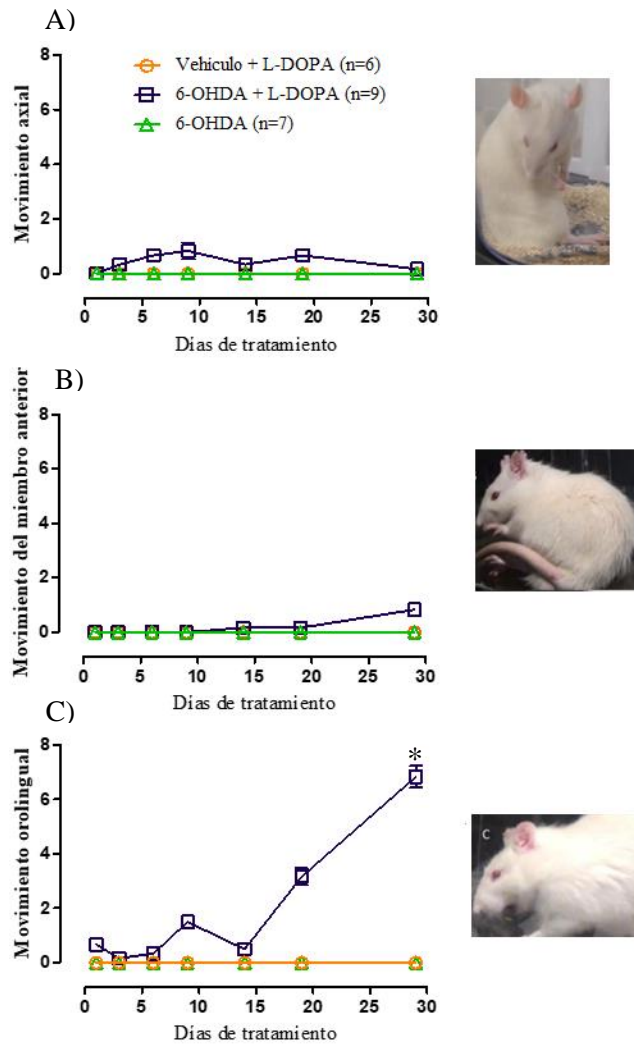


Figura 19. La L-DOPA induce discinesias orolinguales. Se graficó el puntaje total de discinesias obtenido para cada tipo de movimiento evaluado en los 30 días de tratamiento con benserazida y L-DOPA. Solo se encontraron diferencias significativas en las discinesias orolinguales. Las imágenes representan los movimientos evaluados para cada caso, tomadas de Sebastianutto *et al.*, 2016. Se realizó una ANOVA de dos vías y una prueba post-test de Tukey. * $p < 0.05$. VEH+L-DOPA (n=6); 6-OHDA+VEH (n=7); 6-OHDA+L-DOPA (n=9).

6.4 Efecto de la administración crónica de L-DOPA sobre la citoarquitectura de células estriatales

Se realizó una evaluación del efecto de la administración crónica de L-DOPA sobre las células del estriado mediante tinción de Nissl.

En la Figura 20 se muestran imágenes representativas de cada grupo, de manera cualitativa se observa que las células de los grupos intacto y 6-OHDA tienen cuerpos celulares ovalados o redondeados, el núcleo definido y el nucleolo bien teñido al centro del núcleo (panel inferior, flechas negras). Sin embargo, para los grupos tratados con L-DOPA se muestra que tanto el núcleo y el nucleolo ya no son visibles debido a la pérdida de las membranas que los delimitaban, además en el citoplasma se observan acumulaciones de color azul más intenso (panel inferior, flechas amarillas).

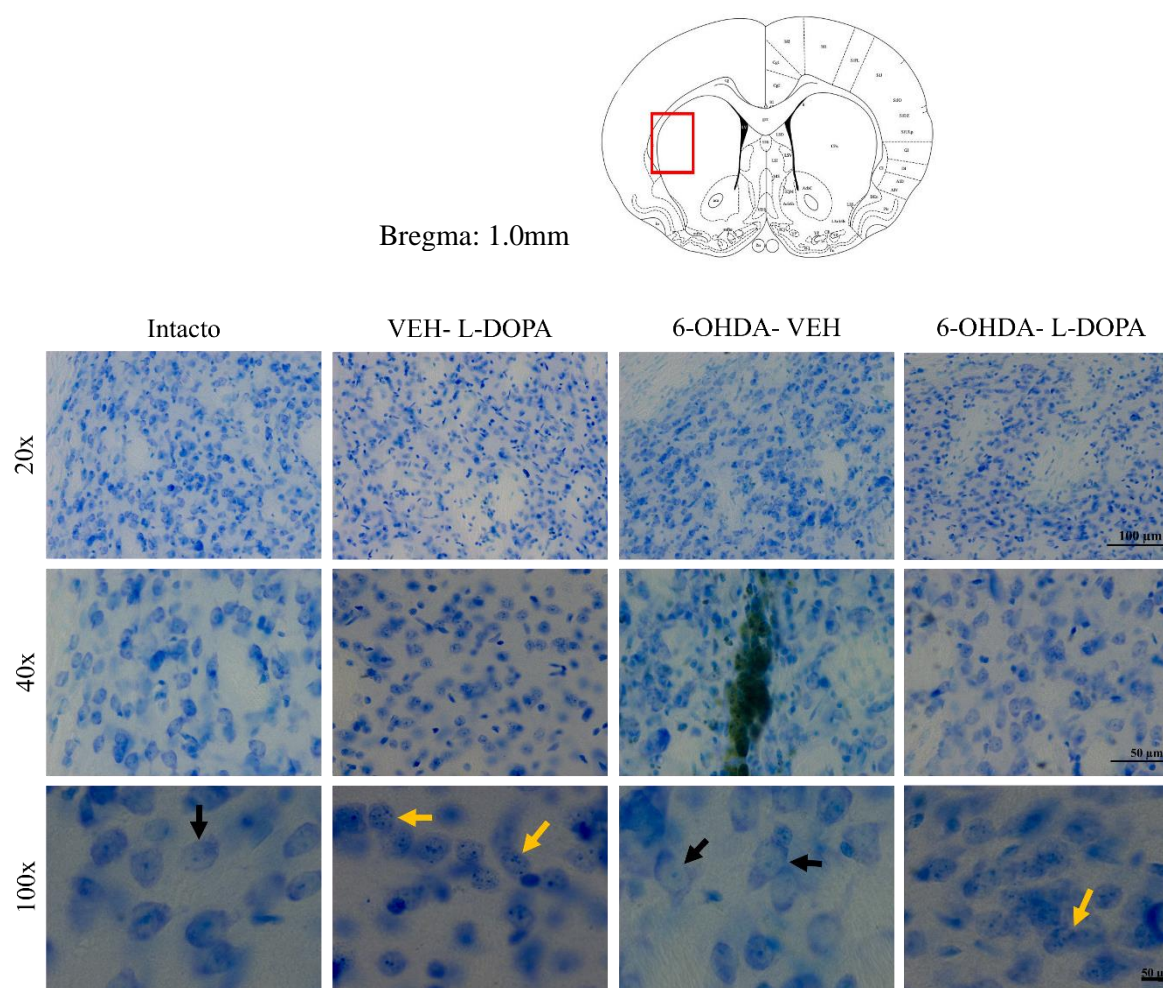


Figura 20. Diferencias morfológicas en las neuronas del estriado. En el dibujo se muestra en color rojo la zona de donde se obtuvieron las imágenes. Se observan cortes coronales del núcleo estriado en los cuatro grupos experimentales. El análisis cualitativo sugiere un daño en las células estriatales de ratas tratadas con L-DOPA. Las flechas amarillas señalan las neuronas con daño celular y las flechas negras muestran células sanas con morfología típica. (n=4)

6.5 Efecto de la administración crónica de L-DOPA sobre la inmunorreactividad para tirosina hidroxilasa en la SNpc y el estriado

Para relacionar el daño provocado por la 6-OHDA y la L-DOPA con la integridad de la vía nigroestriatal se realizó una inmunohistoquímica para TH en el estriado. Se observó que en el grupo 6-OHDA + VEH hay una clara disminución de reactividad para TH respecto al grupo intacto. El grupo Vehículo + L-DOPA y 6-OHDA + L-DOPA muestran una disminución de la reactividad a TH, pero no en el mismo grado que el grupo 6-OHDA+VEH (Figura 21).

Se realizó inmunohistoquímica para TH en la SNpc para evaluar el daño neuronal causado por 6-OHDA y L-DOPA. En el grupo Vehículo + L-DOPA se observa una leve disminución de células positivas a TH en comparación con el lado contralateral. En el grupo 6-OHDA + VEH, las células positivas a TH son escasas en el lado ipsilateral. Por otro lado, en el grupo 6-OHDA + L-DOPA se observó una reducción de células en ambos hemisferios (Figura 22).

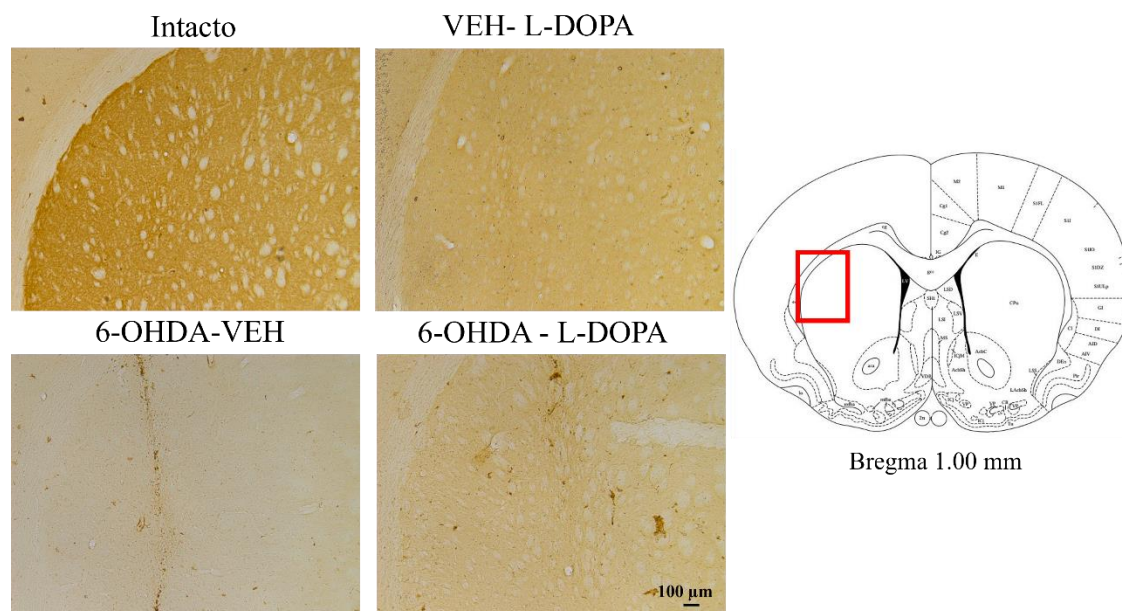


Figura 21. Inmunorreactividad para TH en el estriado. Se muestran en el dibujo en color rojo la zona de donde se obtuvieron las imágenes. Se observan cortes coronales de estriado ipsilateral de cada grupo experimental. La inmunorreactividad disminuye con 6-OHDA respecto al grupo intacto. Se observa que en los grupos tratados con L-DOPA hay una ligera disminución en la expresión de TH respecto al grupo intacto. (n=2)

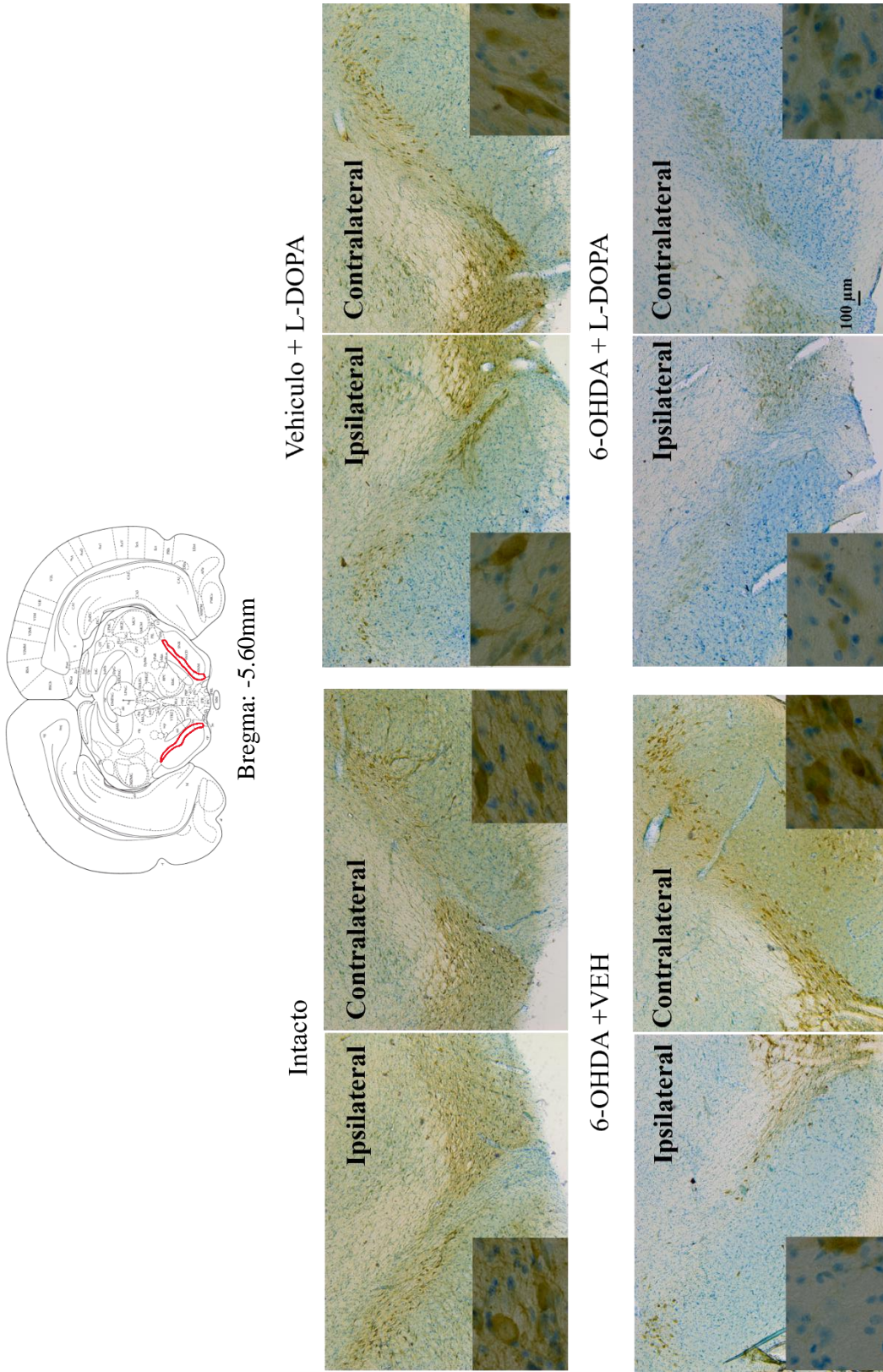


Figura 22. Inmunorreactividad para TH en la SNpc. Se observa la contraindicación con la técnica de Nissl y en color marrón la inmunorreactividad de TH. Se realizó un análisis cualitativo y se observaron menos células positivas a TH en el grupo 6-OHDA-VEH y 6-OHDA + L-DOPA. Las fotografías en los laterales muestran la zona de la SNpc con 100x. n=2

VII. DISCUSIÓN

Desde los años 60's, la L-DOPA se utiliza ampliamente como agente de reemplazo dopaminérgico en el tratamiento de la EP. La L-DOPA es efectiva para controlar los síntomas bradicinéticos característicos de la EP y se considera el medicamento más eficaz para mejorar la calidad de vida de los pacientes (Gandhi & Saadabadi, 2023).

Sin embargo, el uso prolongado de L-DOPA conduce inevitablemente a complicaciones como fluctuaciones motoras y discinesias. Aunque la L-DOPA ofrece beneficios terapéuticos, conforme la patología avanza, se requiere una dosis más alta y más frecuentes durante el tratamiento. Los pacientes tratados durante 5 años con L-DOPA desarrollan LIDs en un 50%. Aunque se ha comprendido mucho sobre los factores de riesgo de las discinesias (la edad de inicio de la EP, la gravedad de la enfermedad y la dosis de L-DOPA), los mecanismos moleculares exactos siguen sin resolverse, por lo tanto, hasta el momento no existe un tratamiento eficaz para la EP (Peng *et al.*, 2019; Kulisevsky, 2022).

El estriado, es una región clave de los ganglios basales, desempeña un papel crucial en el desarrollo de las LIDs. El tratamiento con L-DOPA altera el equilibrio de los receptores dopaminérgicos en el estriado, lo que provoca cambios celulares y moleculares que contribuyen a los movimientos involuntarios característicos de las LIDs. Por tal motivo, el uso de modelos experimentales con lesiones en el estriado es fundamental para estudiar estos mecanismos y desarrollar nuevas estrategias terapéuticas para mitigar las discinesias.

Debido a lo antes mencionado, en el presente proyecto se abordó el estudio de las discinesias cuando existe una lesión moderada en el estriado. Por tal motivo, el primer objetivo abordado en el presente trabajo fue, evaluar la asimetría motora en animales lesionados unilateralmente con 6-OHDA en el estriado dorsolateral, para ello se utilizó la prueba del cilindro (evalúa la asimetría motora) y la conducta de giro (evalúa el grado de lesión DAérgica). Normalmente, las ratas exploran un nuevo entorno de manera organizada utilizando las extremidades anteriores de forma simultánea, indicativo de la simetría que tienen los animales. Por lo tanto, las diferencias en el uso de las extremidades podrían reflejar alteraciones motoras subyacentes, evidenciadas a través de los patrones de exploración de las ratas (Gharbawie *et al.*, 2004). Los resultados obtenidos muestran que el grupo lesionado

unilateralmente con 6-OHDA disminuyen el porcentaje de uso de ambas extremidades al día 7 y 14 post lesión, respecto al grupo vehículo. Esta disminución está asociada con una pérdida de los niveles de DA, por otra parte, se ha mostrado que las lesiones ocasionadas en el estriado son menos severas comparadas con las realizadas en las vías nigroestriatales y en la SNpc (Blandini *et al.*, 2007).

Diversos autores han mostrado una relación entre el uso de ambas extremidades y los niveles de DA en el sistema nigroestriatal. En el modelo de lesión estriatal inducido por 6-OHDA se provoca una disminución dosis-dependiente de los niveles de dopamina en el estriado y una reducción en el número de neuronas dopaminérgicas en la SNpc. Esta lesión parcial es representativa de las etapas iniciales de la enfermedad de Parkinson, en las que alrededor del 50% de las neuronas dopaminérgicas aún permanecen intactas. Schallert y Tillerson (1999) mostraron que cuando los animales lesionados con 6-OHDA que utilizan en un 40% ambas extremidades está relacionado con una disminución de DA de 30-70%, lo que observamos es que al día 7 y al día 14 post lesión los animales lesionados tiene un porcentaje similar en el uso de ambas extremidades. Se ha demostrado que este hallazgo es independiente de la lesión, Bautista (2010) mostró que los animales con lesión intraestriatal disminuyen el porcentaje de uso de ambas extremidades y en días consecuentes no disminuye significativamente respecto al primer día de evaluación. Lo mismo sucede cuando la lesión se realiza en las vías nigroestriatales como lo demuestra Patricio-Martínez (2009).

El proceso apoptótico inicia unas horas después de la administración de 6-OHDA y el daño inicial es crucial para que se establezca la lesión. Además, el sitio de lesión define la disminución de los niveles de DA que puede progresar hasta por 3 semanas, por lo tanto, la asimetría progresa conforme la 6-OHDA ejerce su efecto de manera gradual (Tieu, 2011). Mendes-Pinheiro *et al.*, (2021) realizaron una lesión intraestriatal con 6-OHDA y encontraron en la prueba del cilindro que los animales lesionados utilizan preferentemente la extremidad ipsilateral a la lesión. De igual forma en este trabajo, los animales lesionados utilizaron preferentemente la extremidad ipsilateral ~65% comparado con el grupo vehículo (~50%).

Por otra parte, la conducta de giro ofrece ciertas ventajas en comparación a las pruebas conductuales. Las pruebas en donde se utilizan fármacos que tienen efecto sobre el sistema dopaminérgico permiten mostrar alteraciones motoras que con otras pruebas no serían percibidas. Un ejemplo de esto es la conducta de giro inducida por anfetamina, que ha sido ampliamente utilizada para evaluar la magnitud del daño al sistema nigroestriado en modelos de deficiencia de dopamina (Hudson et al., 1993). La tasa de giro inducida por anfetamina está determinada por el grado de denervación de la región dorsolateral del estriado, es decir, que las ratas con 6-OHDA presentan una denervación dopaminérgica unilateral asociada a una pérdida neuronal de aproximadamente 70% y pérdida de DA del 90% en el estriado (Björklund & Dunnett, 2019).

En el presente proyecto se observó ausencia de conducta rotatoria en el grupo vehículo, mientras que para el grupo lesionado se observó como máximo 17 giros al minuto 40. Estos resultados son consistentes con estudios previos que reportan que en modelos de lesión intraestriatal con 6-OHDA, se requieren pérdidas de neuronas en la SNpc del 50-60% y una disminución de dopamina estriatal del 70% para inducir respuestas rotacionales. Las tasas de giro en ratas con lesiones estriatales varían entre 5 y 20 vueltas por minuto, dependiendo de la severidad de la lesión, que puede abarcar desde el 50% hasta más del 90% (Björklund, 2019; Blandini *et al.*, 2007).

Después de determinar la asimetría motora, el siguiente objetivo fue evaluar la intensidad y frecuencia de las LIDs. Se ha demostrado que varios factores de riesgo pueden desempeñar un papel en la aparición de las LIDs en ratas lesionadas por 6-OHDA, como el grado de neurodegeneración de DA. En general, se necesitan pocos días de inyecciones de L-DOPA para inducir movimientos anormales en ratas gravemente lesionadas, por el contrario, se requieren dosis repetidas o más altas de L-DOPA para inducir discinesias significativas cuando se establece una lesión dopaminérgica parcial (Tronci y Francardo, 2018).

Los resultados muestran que las discinesias no fueron evidentes, a excepción de los movimientos involuntarios anormales orolinguales, siendo el único tipo de discinesia encontrada y con poca frecuencia. Este resultado está relacionado con el tipo de lesión

realizada, Winkler *et al.*, (2002) compararon las características discinéticas entre diferentes modelos de lesión con 6-OHDA, encontrando que en la lesión intraestriatal hubo una incidencia general más baja y menos gravedad de las discinesias bajo la misma dosis de L-DOPA comparada con lesiones en el HPM. Además, cuando se lesiona el estriado con 6-OHDA [14µg] solo aparecen movimientos de las extremidades y orolinguales en los últimos días del tratamiento con L-DOPA.

El análisis de la TH sugiere que las neuronas que sobrevivieron continúan innervando el estriado y, por lo tanto, los niveles de DA no son los suficientemente bajos para que se presenten las LIDs. Es necesario que se conserve menos del 10% de las células DAérgicas para que se manifiesten discinesias.

Otros autores han mostrado que la neurotransmisión dopaminérgica en el NST está relacionada con el desarrollo de discinesias orofaciales en roedores. Se han encontrado receptores dopaminérgicos D1, D2 y D3 en el NST y se ha demostrado que los agonistas dopaminérgicos modifican la actividad electrofisiológica de estas neuronas. La evidencia actual sugiere la existencia de un papel del NST en la discinesia orofacial inducida por L-DOPA. Se infiere que la pérdida de terminales de DA en el NST siga un patrón diferente al del cuerpo estriado o que los cambios compensatorios después de la denervación de DA tengan una ventana de tiempo distinta en el NST en comparación con el cuerpo estriado. Sin embargo, el papel de este núcleo sigue siendo de gran relevancia y se necesita más investigación para entender los mecanismos (Marín *et al.*, 2009).

A lo largo de los años en el estudio de las LIDs, han surgido varias hipótesis para intentar explicar los fenómenos implicados en su aparición. Sin embargo, los movimientos orolinguales han sido poco explorados, y se necesita más información que apoye las hipótesis existentes.

Para el procesamiento del tejido cerebral se realizó tinción de Nissl para evaluar el posible daño en la citoarquitectura de las células estriatales provocado por la administración de 6-OHDA y L-DOPA. Se observó en los grupos vehículo + L-DOPA y 6-OHDA que las células estaban organizadas y con el núcleo y el nucleolo bien definidos. La 6-OHDA es un análogo de la DA que puede ser capturada por el transportador de dopamina, lo que le da

especificidad para afectar a las neuronas catecolaminérgicas, dado que no puede atravesar la BHE y su administración es local, tiene mayor selectividad para las neuronas DAérgicas de la SNpc. (Hernández-Baltazar *et al.*, 2015). Debido a esta especificidad no puede dañar las neuronas espinosas medianas o las internuronas del estriado, debido a esto, las células del estriado no muestran un daño aparente.

No obstante, existe controversia acerca de la toxicidad de la L-DOPA, ya que tanto estudios *in vitro* como *in vivo* han mostrado resultados contradictorios, sin embargo, diversos estudios apuntan que los efectos tóxicos de la L-DOPA podrían deberse a sus productos de autooxidación o a su conversión en DA y otros metabolitos. Numerosos estudios *in vitro* han examinado el efecto de la L-DOPA en diferentes concentraciones y se ha observado que la L-DOPA es altamente tóxica a altas concentraciones, induciendo muerte celular apoptótica y necrótica en cultivos de neuronas dopaminérgicas. En contraste, a bajas concentraciones, la L-DOPA no es tóxica y puede, de hecho, proteger contra la toxicidad mediada por peróxido al inducir la regulación de moléculas antioxidantes. En los estudios *in vivo* en modelos de ratas y primates con lesiones dopaminérgicas inducidas, la administración de L-DOPA no aumentó la tasa de degeneración de las neuronas dopaminérgicas lo que indica que la L-DOPA no exacerba el daño neuronal en un contexto de déficit de dopamina. Aunque se ha demostrado que la L-DOPA tiene propiedades oxidantes, no se ha encontrado evidencia de que cause daño adicional a las neuronas dopaminérgicas en condiciones de estrés oxidativo. Esto sugiere que los efectos observados en cultivos celulares pueden no ser aplicables a la situación en el cerebro humano (Olanow, 2015).

Nuestros resultados mostraron daño celular en las ratas tratadas con L-DOPA. A través del análisis cualitativo, se sugiere la posible presencia de un proceso apoptótico inducido por la administración crónica de L-DOPA, dado que los grupos no tratados con L-DOPA presentan una citoarquitectura normal. Los efectos tóxicos de L-DOPA y DA se deben en gran medida, al estrés oxidativo. Sin embargo, aparte de la producción de ROS durante la autooxidación y el metabolismo, la L-DOPA también puede dañar las mitocondrias. Esto genera ROS adicionales y puede desencadenar la apoptosis, un proceso caracterizado por la contracción celular, la condensación de la cromatina y la fragmentación del ADN (Lipski *et al.*, 2011).

La TH es una enzima clave en la EP, ya que cataliza el paso inicial y limitante en la biosíntesis de catecolaminas. Su regulación es crucial para las funciones neuronales que dependen de las células catecolaminérgicas. Las alteraciones en la actividad de la TH están implicadas en la patogénesis de diversos trastornos relacionados con la disfunción de las catecolaminas, siendo la EP uno de los más destacados. La regulación de la TH a nivel de proteínas está mediada por la fosforilación, la desfosforilación, los cambios en la estabilidad de la enzima, la inhibición del sustrato y la inhibición de la retroalimentación por las catecolaminas (Nagatsu *et al.*, 2019).

En el presente trabajo, se empleó un modelo de lesión inducida con 6-OHDA en el estriado dorsolateral, lo que permite evaluar el efecto de la neurotoxicidad y el tratamiento con L-DOPA sobre las terminales dopaminérgicas. Los resultados indican que la lesión con 6-OHDA en el estriado reduce significativamente la expresión de TH que se observa como una pérdida de terminales dopaminérgicas en esta región. Sin embargo, los grupos tratados con L-DOPA muestran una recuperación parcial en la expresión de TH, lo que sugiere un efecto compensatorio en las terminales remanentes. Esto podría explicarse por la regulación de la TH, modulada por los niveles de dopamina generados a partir de L-DOPA.

La inhibición por retroalimentación de la TH es dependiente de la concentración, reversible y resulta de la unión directa de DA a TH. La DA actúa como un inhibidor competitivo de la TH frente a la tetrahidrobiopterina (BH₄) (que es utilizado como un cofactor de la enzima). Al unirse a la TH, la DA impide que BH₄ se una, lo que disminuye la actividad de la enzima. La unión de DA provoca que la TH necesite concentraciones mucho más altas de BH₄ para funcionar correctamente (Tekin *et al.*, 2014).

La fosforilación, catalizada por proteínas quinasas, y la desfosforilación, catalizada por proteínas fosfatasas, permiten una regulación rápida y reversible de la TH y son fundamentales para mantener los niveles óptimos de catecolaminas en las células. En la enzima los sitios fosforilados están compuestos por las serinas 8, 19, 31 y 40. La fosforilación de la Ser40 en la región N-terminal de la TH es clave. La fosforilación en este sitio específico, mediada por PKA, desactiva la inhibición inducida por DA, permitiendo la activación de la enzima. La fosforilación en Ser31 regula la localización celular de la TH, y en algunas

condiciones puede estar asociada con la inhibición de la actividad enzimática (Bueno-Carrasco *et al.*, 2022).

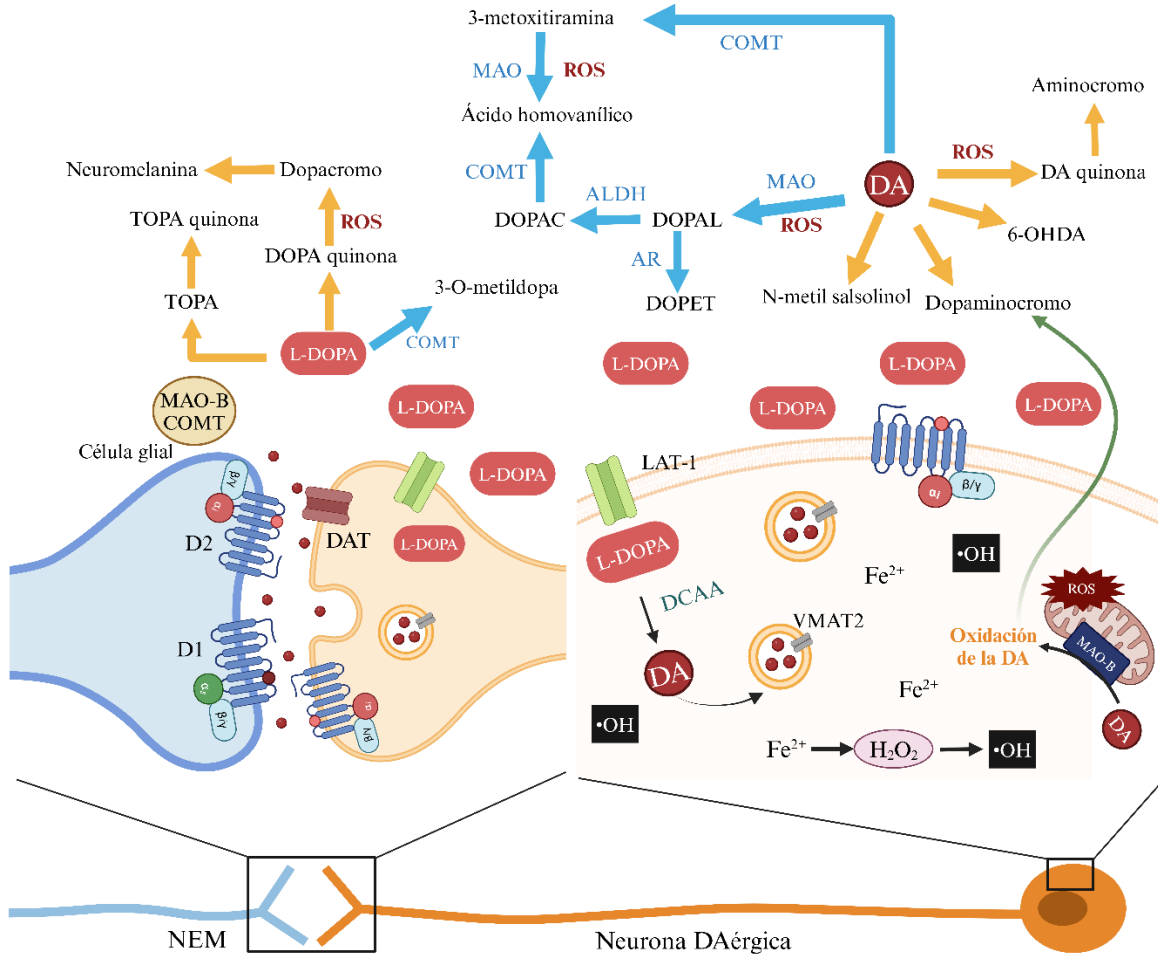


Figura 23. Mecanismo de acción hipotético de la toxicidad de L-DOPA. Se propone que la L-DOPA induce daño debido a la producción de radicales libres mediante sus vías de degradación y metabolitos tóxicos. Las flechas en color azul indican la degradación a través de enzimas y las flechas indican la autooxidación.

VIII. CONCLUSIONES

- La administración de 6-OHDA en el estriado dorsolateral produce asimetría motora en las ratas.
- El tratamiento crónico con L-DOPA a una dosis de 10 mg/kg induce discinesias orolinguales de poca intensidad cuando se lesiona el estriado dorsolateral con 6-OHDA.
- El tratamiento crónico con L-DOPA a una dosis de 10 mg/kg altera la organización nuclear en células del estriado lesionadas con 6-OHDA.

IX. REFERENCIAS

Alberico, S. L., Kim, Y. C., Lence, T., & Narayanan, N. S. (2017). Axial levodopa-induced dyskinesias and neuronal activity in the dorsal striatum. *Neuroscience*, 343, 240–249. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.11.046>

Bautista-Rodríguez, E. (2010). *Efecto de la administración intramuscular del fragmento C-terminal de la toxina tetánica sobre la asimetría motora y dopamina en el estriado de ratas lesionadas con 6-OHDA* (Tesis de licenciatura). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Repositorio BUAP.

Bandopadhyay, R., Mishra, N., Rana, R., Kaur, G., Ghoneim, M. M., Alshehri, S., Mustafa, G., Ahmad, J., Alhakamy, N. A., & Mishra, A. (2022). Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies for Levodopa-Induced Dyskinesia in Parkinson's Disease: A Perspective Through Preclinical and Clinical Evidence. *Frontiers in Pharmacology*, 13. doi: 10.3389/fphar.2022.805388.

Björklund, A., & Dunnett, S. B. (2019). The Amphetamine Induced Rotation Test: A Re-Assessment of Its Use as a Tool to Monitor Motor Impairment and Functional Recovery in Rodent Models of Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's disease*, 9(1), 17–29. <https://doi.org/10.3233/JPD-181525>

Blandini, F., Nappi, G., Tassorelli, C., & Martignoni, E. (2000). Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. *Progress in neurobiology*, 62(1), 63–88. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(99\)00067-2](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(99)00067-2)

Blandini, F., Levandis, G., Bazzini, E., Nappi, G., & Armentero, M. T. (2007). Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine in the rat: new clues from an old model. *The European journal of neuroscience*, 25(2), 397–405. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05285.x>

Blum D, Torch S, Lambeng N, Nissou M, Benabid AL, Sadoul R, Verna JM. (2001). Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 65(2):135-72.

Bueno-Carrasco, M. T., Cuéllar, J., Flydal, M. I., Santiago, C., Kråkenes, T.-A., Kleppe, R., López-Blanco, J. R., Marcilla, M., Teigen, K., Alvira, S., Chacón, P., Martínez, A., & Valpuesta, J. M. (2022). Structural mechanism for tyrosine hydroxylase inhibition by dopamine and reactivation by Ser40 phosphorylation. *Nature Communications*, *13*, 74. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27657-y>

Carretero, M. (2006). Enfermedad de Parkinson. *ELSEVIER*, *25*(8), 116–118. <https://doi.org/https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-enfermedad-parkinson-13094135>

Cataldi, S., Stanley, A. T., Miniaci, M. C., & Sulzer, D. (2022). Interpreting the role of the striatum during multiple phases of motor learning. *The FEBS journal*, *289*(8), 2263–2281. <https://doi.org/10.1111/febs.15908>

Cotzias, G. C., Van Woert, M. H., & Schiffer, L. M. (1967). Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. *The New England Journal of Medicine*, *276*(7), 374-379. doi: 10.1056/NEJM196702162760705

Darmopil, S., Martín, A. B., De Diego, I. R., Ares, S., & Moratalla, R. (2009). Genetic inactivation of dopamine D1 but not D2 receptors inhibits L-DOPA-induced dyskinesia and histone activation. *Biological psychiatry*, *66*(6), 603–613. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.04.025>

Deumens, R., Blokland, A., & Prickaerts, J. (2002). Modeling Parkinson's Disease in Rats: An Evaluation of 6-OHDA Lesions of the Nigrostriatal Pathway. *Experimental Neurology*, *17c5*, 303-317. doi: 10.1006/exnr.2002.7891

Dovonou, A., Bolduc, C., Soto Linan, V., & others. (2023). Animal models of Parkinson's disease: Bridging the gap between hallmark features and research questions. *Translational Neurodegeneration*, *12*, 36. <https://doi.org/10.1186/s40035-023-00368-8>

Dos-Santos-Pereira, M., da-Silva, C. A., Guimarães, F. S., & Del-Bel, E. (2016). Co-administration of cannabidiol and capsazepine reduces L-DOPA-induced dyskinesia in mice: Possible mechanism of action. *Neurobiology of disease*, *94*, 179–195. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.06.013>

Duty, S., & Jenner, P. (2011). Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *British journal of pharmacology*, *164*(4), 1357–1391. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01426.x>

Elizondo-Cárdenas, G., Déctor-Carrillo, M. A., Martínez-Rodríguez, H. R., Martínez-de Villarreal, L., & Esmer-Sánchez, M. C. (2011). Genetics of Parkinson's disease: A review of recent findings. *Revista de Neurología*, *13*(51), 96-100.

Fieblinger, T. (2021). Striatal Control of Movement: A Role for New Neuronal (Sub-) Populations? *Frontiers in Human Neuroscience*, *15*, 697284. doi: 10.3389/fnhum.2021.697284

Gandhi, K. R., & Saadabadi, A. (2023). Levodopa (L-Dopa). In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Gharbawie, O. A., Whishaw, P. A., & Whishaw, I. Q. (2004). The topography of three-dimensional exploration: A new quantification of vertical and horizontal exploration, postural support, and exploratory bouts in the cylinder test. *Behavioural Brain Research*, *151*(1), 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.08.009>

Gong, S., Doughty, M., Harbaugh, C. R., Cummins, A., Hatten, M. E., Heintz, N., & Gerfen, C. R. (2007). A method for double-immunolabeling of neurons using a combination of horseradish peroxidase conjugation and DAB staining of Nissl substance. *Journal of Neuroscience Research*, *85*(2), 356-363. <https://doi.org/10.1002/jnr.21122>

Habibi, M. (2017). Dopamine Receptors. En *Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology*. Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-809324-5.00551-4

He, S., Ru, Q., Chen, L., Xu, G., & Wu, Y. (2024). Advances in animal models of Parkinson's disease. *Brain research bulletin*, *215*, 111024. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2024.111024>

Hernandez-Baltazar, D., Zavala-Flores, L. M., & Villanueva-Olivo, A. (2017). The 6-hydroxydopamine model and parkinsonian pathophysiology: Novel findings in an older model. El modelo de 6-hidroxidopamina y la fisiopatología parkinsoniana: nuevos hallazgos

en un viejo modelo. *Neurologia (Barcelona, Spain)*, 32(8), 533–539. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2015.06.011>

Hudson, J. L., van Horne, C. G., Strömberg, I., Brock, S., Clayton, J., Masserano, J., Hoffer, B. J., & Gerhardt, G. A. (1993). Correlation of apomorphine- and amphetamine-induced turning with nigrostriatal dopamine content in unilateral 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Brain Research*, 626(1), 167–174. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90576-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90576-9)

Janhunen, S. (2005). Different responses of the nigrostriatal and mesolimbic dopaminergic pathways to nicotinic receptor agonists. (Tesis académica). Universidad de Helsinki, Facultad de Farmacia, División de Farmacología y Toxicología.

Jones-Tabah, J., Mohammad, H., Paulus, E. G., Clarke, P. B. S., & Hébert, T. E. (2022). The Signaling and Pharmacology of the Dopamine D1 Receptor. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 15, 806618. doi: 10.3389/fncel.2021.806618

Khan, E., Hasan, I., & Haque, M. E. (2023). Parkinson's Disease: Exploring Different Animal Model Systems. *International journal of molecular sciences*, 24(10), 9088. <https://doi.org/10.3390/ijms24109088>

Kirik, D., Rosenblad, C., & Björklund, A. (1998). Characterization of Behavioral and Neurodegenerative Changes Following Partial Lesions of the Nigrostriatal Dopamine System Induced by Intrastratial 6-Hydroxydopamine in the Rat. *Experimental Neurology*, 152(2), 259-277. <https://doi.org/10.1006/exnr.1998.6848>

Klein, M. O., Battagello, D. S., Cardoso, A. R., Hauser, D. N., Bittencourt, J. C., & Correa, R. G. (2019). Dopamine: Functions, signaling, and association with neurological diseases. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 39(1), 31–59. <https://doi.org/10.1007/s10571-018-0632-3>

Kouli, A., Torsney, K. M., & Kuan, W. L. (2018). Parkinson's Disease: Etiology, Neuropathology, and Pathogenesis. In T. B. Stoker (Eds.) et. al., *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. Codon Publications.

Kulisevsky, J. (2022). Tratamiento farmacológico de los síntomas motores de la enfermedad de Parkinson: actualización y recomendaciones de un experto. *Revista De Neurología*, 75(S04), S1. <https://doi.org/10.33588/rn.75s04.2022217>

Kulisevsky, J., Luquin, M.R., Arbelo, J.M., Burguera, J.A., Carrillo, F., Castro, A., Chacón, J., García-Ruiz, P. J., Lezcano, E., Mir, P., Martínez-Castrillo, J.C., Martínez-Torres, I.,

Kwon, D. K., Kwatra, M., Wang, J., & Ko, H. S. (2022). Levodopa-Induced Dyskinesia in Parkinson's Disease: Pathogenesis and Emerging Treatment Strategies. *Cells*, 11(23), 3736. <https://doi.org/10.3390/cells11233736>

Lanciego, J. L., Luquin, N., & Obeso, J. A. (2012). Functional neuroanatomy of the basal ganglia. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(12), a009621. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009621>

Lipski, J., Nistico, R., Berretta, N., Guatteo, E., Bernardi, G., & Mercuri, N. B. (2011). L-DOPA: a scapegoat for accelerated neurodegeneration in Parkinson's disease?. *Progress in neurobiology*, 94(4), 389–407. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.06.005>

Ma, P., Ou, Y. (2023). Correlation between the dopaminergic system and inflammation disease: a review. *Mol Biol Rep*. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08610-2>

MacMahon Copas, A. N., McComish, S. F., Fletcher, J. M., & Caldwell, M. A. (2021). The pathogenesis of Parkinson's disease: A complex interplay between astrocytes, microglia, and T lymphocytes? *Frontiers in Neurology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.666737>

Manson, A., Stirpe, P., & Schrag, A. (2012). Levodopa induced dyskinesias clinical features, incidence, risk factors, management and impact of quality of life. *J Parkinsons Dis*, 2(3), 189-98.

Marin, C., Aguilar, E., Mengod, G., Cortés, R., & Obeso, J. A. (2009). Effects of early vs. late initiation of levodopa treatment in hemiparkinsonian rats. *The European journal of neuroscience*, 30(5), 823–832. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06877.x>

Mazumder, M., Paul, R., Bhattacharya, P., & Borah, A. (2019, February 28). Neurological sequel of chronic kidney disease: From diminished Acetylcholinesterase activity to

mitochondrial dysfunctions, oxidative stress and inflammation in mice brain. *Scientific Reports*, 9. doi: 10.1038/s41598-018-37935-3.

Mendes-Pinheiro, B., Soares-Cunha, C., Marote, A., Loureiro-Campos, E., Campos, J., Barata-Antunes, S., Monteiro-Fernandes, D., Santos, D., Duarte-Silva, S., Pinto, L., & José Salgado, A. (2021). Unilateral Intrastratial 6-Hydroxydopamine Lesion in Mice: A Closer Look into Non-Motor Phenotype and Glial Response. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 11530. <https://doi.org/10.3390/ijms222111530>

Milardi, D., Quartarone, A., Bramanti, A., Anastasi, G., Bertino, S., Basile, G. A., Buonasera, P., Pilone, G., Celeste, G., Rizzo, G., Bruschetta, D., & Cacciola, A. (2019). The Cortico-Basal Ganglia-Cerebellar Network: Past, Present and Future Perspectives. *Frontiers in systems neuroscience*, 13, 61. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2019.00061>

Montenegro Pérez, J. A., Franco Torres, V. J., Vargas Tobios, R. C., Beltrán Carrascal, E. J., & Sánchez-Martínez, S. M. (2022). Movimientos coreiformes y calcificaciones ganglio basales como presentación de la enfermedad de Fahr. *Acta Médica Colombiana*, 48(1). <https://doi.org/10.36104/amc.2023.2635>

Nagatsu, T., Nakashima, A., Ichinose, H., & Kobayashi, K. (2019). Human tyrosine hydroxylase in Parkinson's disease and in related disorders. *Journal of Neural Transmission*, 126(4), 397–409. <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1903-3>

Obeso, J. A., Rodríguez-Oroz, M. C., Benitez-Temino, B., Blesa, F. J., Guridi, J., Marin, C., & Rodriguez, M. (2008). Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, 23 Suppl 3, S548–S559. <https://doi.org/10.1002/mds.22062>

Olanow C. W. (2015). Levodopa: effect on cell death and the natural history of Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 30(1), 37–44. <https://doi.org/10.1002/mds.26119>

Ortiz, G. G., González-Usigli, H., Pacheco-Moisés, F. P., Mireles-Ramírez, M. A., Sánchez-López, A. L., Torres-Sánchez, E. D., González, V. S. (2017). Physiology and Pathology of

Neuroimmunology: Role of Inflammation in Parkinson's Disease. InTech. doi: 10.5772/intechopen.70377

Ospina, N., Pérez, C., Vargas, J., Cervantes, A., Rodríguez, Mayela. (2017). Ganglios Basales y Conducta. *Revista Mexicana de Neurociencia*. 18(6):74-86.

Ovallath, S., & Sulthana, B. (2017). Levodopa: History and Therapeutic Applications. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 20(3), 185–189. https://doi.org/10.4103/aian.AIAN_241_17

Palafox-Sánchez, V., Mendieta, L., Ramírez-García, G., Candalija, A., Aguilera, J., & Limón, I. D. (2016). Effect of the C-terminal domain of the heavy chain of tetanus toxin on dyskinesia caused by levodopa in 6-hydroxydopamine-lesioned rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 145, 33-44. doi: 10.1016/j.pbb.2016.04.001

Patricio-Martínez, A. (2009). *Efecto del fragmento C-terminal de la toxina tetánica sobre la asimetría motora de ratas con 6-OHDA y la supervivencia celular e inmunorreactividad de la tirosina hidroxilasa en el estriado y la sustancia nigra pars compacta* (Tesis de licenciatura). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Repositorio BUAP.

Pandey, S., & Srivanitchapoom, P. (2017). Levodopa-induced Dyskinesia: Clinical Features, Pathophysiology, and Medical Management. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 20(3), 190–198. https://doi.org/10.4103/aian.AIAN_239_17

Pardo-Moreno, T., García-Morales, V., Suleiman-Martos, S., Rivas-Domínguez, A., Mohamed-Mohamed, H., Ramos-Rodríguez, J. J., Melguizo-Rodríguez, L., & González-Acedo, A. (2023). Current Treatments and New, Tentative Therapies for Parkinson's Disease. *Pharmaceutics*, 15(3), 770. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15030770>

Paxinos G, Watson C. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Ed Academic press. 4ta edt. EUA.

Peng, Q., Zhong, S., Tan, Y., Zeng, W., Wang, J., Cheng, C., Yang, X., Wu, Y., Cao, X., & Xu, Y. (2019). The Rodent Models of Dyskinesia and Their Behavioral Assessment. *Frontiers in neurology*, 10, 1016. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01016>

Philippens, I. H. C. H. M. (2017). Refinement of the MPTP model for Parkinson's disease in the marmoset. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 25-26, 53-61. <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2018.10.003>

Pires, A. O., Teixeira, F. G., Mendes-Pinheiro, B., Serra, S. C., Sousa, N., & Salgado, A. J. (2017). Old and new challenges in Parkinson's disease therapeutics. *Progress in Neurobiology*, 156, 69–89. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.04.006>

Riederer, P., Gerlach, M., Müller, T., & Reichmann, H. (2007). Relating mode of action to clinical practice: Dopaminergic agents in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 13(8), 466-479.

Rocca W. A. (2018). The burden of Parkinson's disease: a worldwide perspective. *The Lancet. Neurology*, 17(11), 928–929. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30355-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30355-7)

Rocha, G. S., Freire, M. A. M., Britto, A. M., Paiva, K. M., Oliveira, R. F., Fonseca, I. A. T., Araújo, D. P., Oliveira, L. C., Guzen, F. P., Morais, P. L. A. G., & Cavalcanti, J. R. L. P. (2023). Basal ganglia for beginners: the basic concepts you need to know and their role in movement control. *Frontiers in systems neuroscience*, 17, 1242929. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2023.1242929>

Rodríguez, P., Michel, J., Díaz, Y., Rojas, Y., Rodríguez, R. & Aguilera, Raúl. (2013). Actualización en enfermedad de Parkinson idiopática. *Correo Científico Médico*, 17(2), 163-177.

Sebastianutto, I., Maslava, N., Hopkins, CR y Cenci, MA (2016). Validación de una escala mejorada para calificar la discinesia inducida por l-DOPA en ratones y los efectos de antagonistas específicos de los receptores de dopamina. *Neurobiología de la enfermedad*, 96, 156-170.

Schallert, T., Tillerson, J.L. (1999). Intervention Strategies for Degeneration of Dopamine Neurons in Parkinsonism. In: Emerich, D.F., Dean, R.L., Sanberg, P.R. (eds) *Central Nervous System Diseases. Contemporary Neuroscience*. Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-691-1_8

Speranza, L., di Porzio, U., Viggiano, D., de Donato, A., & Volpicelli, F. (2021). Dopamine: The Neuromodulator of Long-Term Synaptic Plasticity, Reward and Movement Control. *Cells*, 10(4), 735. <https://doi.org/10.3390/cells10040735>

Steiner, H., & Tseng, K. Y. (Eds.). (2020). *Handbook of basal ganglia structure and function* (2nd ed., Vol. 24). Academic Press.

Tekin, I., Roskoski, R., Jr, Carkaci-Salli, N., & Vrana, K. E. (2014). Complex molecular regulation of tyrosine hydroxylase. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 121(12), 1451–1481. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1238-7>

Tieu K. (2011). A guide to neurotoxic animal models of Parkinson's disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 1(1), a009316. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009316>

Tronci, E., & Francardo, V. (2018). Animal models of L-DOPA-induced dyskinesia: the 6-OHDA-lesioned rat and mouse. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 125(8), 1137–1144. <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1825-5>

Tysnes, O. B., & Storstein, A. (2017). Epidemiology of Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 124(8), 901–905. <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1686-y>

Ungerstedt U. (1971). Striatal dopamine release after amphetamine or nerve degeneration revealed by rotational behaviour. *Acta physiologica Scandinavica. Supplementum*, 367, 49–68. <https://doi.org/10.1111/j.1365-201x.1971.tb10999.x>

Winkler, C., Kirik, D., Björklund, A., & Cenci, M. A. (2002). L-DOPA-Induced Dyskinesia in the Intrastratial 6-Hydroxydopamine Model of Parkinson's Disease: Relation to Motor and Cellular Parameters of Nigrostriatal Function. *Neurobiology of Disease*, 10(2), 165-186. <https://doi.org/10.1006/nbdi.2002.0499>

Woodlee, M. T., Kane, J. R., Chang, J., Cormack, L. K., & Schallert, T. (2008). Enhanced function in the good forelimb of hemi-parkinson rats: Compensator adaptation for

contralateral postural instability? *Experimental Neurology*, 211(2), 511–517.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.02.024>

Xu, H., Yang, F. (2022). The interplay of dopamine metabolism abnormalities and mitochondrial defects in the pathogenesis of schizophrenia. *Transl Psychiatry* 12, 464.
<https://doi.org/10.1038/s41398-022-02233-0>

Yang, K., Zhao, X., Wang, C., Zeng, C., Luo, Y., & Sun, T. (2021). Circuit Mechanisms of L-DOPA-Induced Dyskinesia (LID). *Frontiers in neuroscience*, 15, 614412.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2021.614412>

Zafar, S., & Yaddanapudi, S. S. (2023). Parkinson Disease. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Zeng, X. S., Geng, W. S., & Jia, J. J. (2018). Neurotoxin-Induced Animal Models of Parkinson Disease: Pathogenic Mechanism and Assessment. *ASN neuro*, 10, 1759091418777438. <https://doi.org/10.1177/1759091418777438>

Zheng, C. Q., Fan, H. X., Li, X. X., Li, J. J., Sheng, S., & Zhang, F. (2021). Resveratrol Alleviates Levodopa-Induced Dyskinesia in Rats. *Frontiers in immunology*, 12, 683577.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.683577>

X. ANEXOS

El presente trabajo fue presentado en la Semana Internacional del Cerebro marzo 2023 y marzo 2024 en la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP.



Papel del estriado en las discinesias inducidas por L-DOPA en un modelo animal Parkinsoniano

De Los Santos Zarate María Carolina ^{1,2}, Limón Ilhuicamina Daniel ¹, Patricio-Martínez Aleidy ^{1,2}

Contacto: maria.delossantos@alumno.buap.mx daniel.limon@correo.buap.mx

¹ Laboratorio de neurofarmacología. FCQ-BUAP, ² Facultad de Ciencias Biológicas-BUAP



Resumen

La Enfermedad de Parkinson es un trastorno crónico, progresivo e irreversible que se caracteriza por la muerte de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia *nigra pars compacta*. Esta deficiencia de dopamina se compensa con la administración de L-DOPA, un precursor de la dopamina que puede atravesar la barrera hematoencefálica y ejercer su efecto en el Sistema Nervioso Central. Sin embargo, el uso crónico de L-DOPA conduce a la aparición de discinesias que son más discapacitantes que la propia enfermedad.

El núcleo estriado dorsolateral desempeña un papel importante en el movimiento dentro del circuito de los ganglios basales. El objetivo fue evaluar las discinesias y los cambios morfológicos producidos por la administración crónica de L-DOPA en ratas lesionadas con 6-OHDA en el estriado dorsolateral. Se lesionaron ratas macho con 6-OHDA en el estriado dorsolateral, a los 7 días se realizó la prueba del cilindro, a los 14 días se midió nuevamente la prueba del cilindro y la conducta de giro, ambas para medir la asimetría motora, a los 18 días post-lesión se empezó con el tratamiento crónico con L-DOPA (10mg/kg) i.p con una duración de 30 días. Se evaluaron las discinesias en 7 días distintos. Los resultados muestran que la 6-OHDA indujo asimetría motora, sin embargo, las únicas discinesias encontradas fueron los movimientos orolinguales. La L-DOPA indujo cambios morfológicos en las células del estriado.