



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: QUÍMICA MEDICINAL**

**DESARROLLO DE ALODINIA TÁCTIL EN UN MODELO DE LA
ENFERMEDAD DE PARKINSON INDUCIDO POR LA
ADMINISTRACIÓN DE 6-HIDROXIDOPAMINA EN LA SNc EN
RATA**

**IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS**

PRESENTA

**L. en. F. AMAYA MONTSERRAT AUSTRICH OLIVARES
MATRÍCULA: 2161800542**

COMITÉ TUTORIAL

**TUTOR: DRA. BEATRIZ GODÍNEZ CHAPARRO
ASESOR: DR. VINICIO GRANADOS SOTO
ASESORA: DRA. FRANCISCA PÉREZ SEVERIANO**

MARZO, 2018

**DESARROLLO DE ALODINIA TÁCTIL EN UN MODELO DE LA
ENFERMEDAD DE PARKINSON INDUCIDO POR LA
ADMINISTRACIÓN DE 6-HIDROXIDOPAMINA EN LA SNc EN
RATA**

Comité Tutorial

**Vo. Bo. Tutor
Dra. Beatriz Godínez Chaparro**

**Vo. Bo. Asesor
Dr. Vinicio Granados Soto**

**Vo. Bo. Asesor
Dra. Francisca Pérez Severiano**

**L. en F. Amaya Montserrat Austrich Olivares
2161800542**

**DESARROLLO DE ALODINIA TÁCTIL EN UN MODELO DE LA
ENFERMEDAD DE PARKINSON INDUCIDO POR LA
ADMINISTRACIÓN DE 6-HIDROXIDOPAMINA EN LA SNc EN
RATA**

Jurado del Examen de Grado

**Vo. Bo. Presidente
Dra. Liliana Martínez Mendieta**

**Vo. Bo. Vocal
Dr. Héctor Isaac Rocha González**

**Vo. Bo. Secretario
Dra. Beatriz Godínez Chaparro**

**L. en F. Amaya Montserrat Austrich Olivares
2161800542**

I. AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

La parte experimental de esta tesis se realizó en el laboratorio No. 004 del Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X) en la Cd. de México, bajo la dirección de la Dra. Beatriz Godínez Chaparro.

La prueba de cilindro se aprendió en una estancia trimestral en el laboratorio de Neuroquímica de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Puebla, bajo la dirección de la Dra. Liliana Martínez Mendieta.

Durante la realización de este trabajo de investigación se contó con el apoyo de la beca de maestría No. 596606 y la beca de “apoyo de término de estudios de maestría” del proyecto de Ciencia Básica No. 34611730 otorgadas por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt).

II. AGRADECIMIENTOS PERSONALES

- ❖ A la Dra. Beatriz Godínez Chaparro por su apoyo, dedicación, consejos y otros dos años más por contribuir, nuevamente, a construir mi camino en la investigación.
- ❖ A mis asesores por su apoyo en la revisión y contribución del proyecto y de la tesis. Dr. Vinicio Granados Soto: por los seminarios, clases, enseñanza y atenciones académicas a lo largo de mi maestría. Dra. Francis Pérez: por mostrarme el primer contacto en la cirugía, que fue el fulcro de esta investigación y por su paciencia y apoyo a lo largo de estos dos años. A la Dra. Liliana Martínez Mendieta, por otorgarme su tiempo, dedicación, enseñanza y el contacto con equipos que ayudaron a concluir esta investigación.
- ❖ A mis compañeros de laboratorio de la UAM-Xochimilco: Toño, Isabel, Valeria (apoyo en parte motora), Alonso (apoyo en parte nociceptiva), Dra. Geovanna, Dr. Omar (apoyo en revisión y crítica de tesis), Traicy y Alfonso por compartir consejos, risas, frustraciones y estrés. A mis compañeros de la BUAP: Marisol, Irvin, Felipe y Vicky por su apoyo y atenciones en mi enseñanza durante mi estancia en Puebla.
- ❖ A mis amigos: Mary, Rose, Mariwy, Vane, Montse, Adri, Vicky, Eve, Estopita, Raspu, Bitch, Foca, Paco y Majito que han sido cómplices y testigos del esfuerzo dedicado a esta maestría.
- ❖ A mi novio Ricardo por brindarme su aliento, amor, cariño y comprensión, tanto en mi vida profesional como personal.
- ❖ A mis tíos Marta, Javier, Edurne, Andoni, Miguel Ángel y Minerva por ser mis imágenes a seguir, por el apoyo que me han dado durante toda mi vida. A mis primos; Ulises y David por volvernos a reencontrar y tener la misma chispa que cuando éramos niños. A mi primo Andoni por siempre estar presente en mis pensamientos.
- ❖ A mi hermano Joan a quien tengo en extremo aprecio y que espero logre lo que deseé hacer con su vida profesional y personal. Sin él y sin su manera de ser no podría haber llegado a donde he llegado y ser como soy.
- ❖ A mi padre, Jordi, por enseñarme lo difícil de la vida, pero que con el tiempo todo se puede lograr. ¡Te quiero mucho!
- ❖ A mi madre, lo volveré a decir... por ser la persona más complicadísimamente sencilla en todo su ser. Todo el apoyo y consejos que me ha brindado, no sólo en cuestiones tácitas sino también en lo emocional. Siempre estarás en mis pensamientos y en mi ser. Mi mejor amiga. ¡Te amo!

A todos ustedes y a los que me hicieron falta por mencionar, muchas gracias por estar en mi camino de vida.

III. ABREVIATURAS

6-OHDA: 6-hidroxi-dopamina

AAD: Descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos

AMPA: Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico

AMPc: Adenosin monofosfato cíclico

AP: Anteroposterior

ASM: Área suplementaria motora

ATP: Adenosina trifosfato

BHC: Barrera hematoencefálica

BUAP: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

CAM: Terapia Complementaria (por sus siglas en inglés)

CB: Calbidina

CM: Núcleo centromedial intralaminar del tálamo

COMT: Catecol-*o*-metiltransferasa

Conacyt: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

COX: Ciclooxygenasa

CR: Calretinina

D₁: Receptor dopaminérgico tipo 1

D₂: Receptor dopaminérgico tipo 2

DA: Dopamina

DAT: Transportador de dopamina

DDC: Dopamina descarboxilasa

DOPAC: Ácido 3,4-dihidroxi-fenilacético

DV: Dorsoventral

EP: Enfermedad de Parkinson

ERO: Especie Reactiva de Oxígeno

EROS: Especies Reactivas de Oxígeno

GABA: Ácido gamma-aminobutírico

GP: *Globus pallidus* o *globo palido*

GPI: *Globus pallidus* interno

GPe: *Globus pallidus* externo

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

HVA: Ácido homovanílico

i.p.: Administración intraperitoneal

IASP: Asociación internacional para el Estudio del Dolor, por sus siglas en inglés.

K: Potasio

L: Lateral

L-DOPA: L-3,4-dihidroxifenilalanina, levodopa

MAO: Monoaminoxidasa

MAO-A: Monoaminoxidasa tipo A

MAO-B: Monoaminoxidasa tipo B

MDMA: 3,4-metildioximetametamina

MPPP: 1-metil-4-fenil-4-propionoxipiperidina ó desmetilprodina

MPTP: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina

NA: Núcleo *Accumbens*

Na⁺: Sodio

NEM: Neuronas del estriado espinoso medio

NMDA: N-metil-D-aspartato

NOS: Óxido Nítrico Sintasa

NPP: Núcleo pedunculopontino

Paraquat: 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo

PCA: *p*-cloroanfetamina

Pf: Núcleo parafascicular intralaminar del tálamo

PFC: Corteza Pre-Frontal

PPX: Pramipexol

PVN: Núcleo paraventricular, por sus siglas en inglés

RLS: Síndrome de pierna inquieta

s.c.: Administración subcutánea

SN: Sustantia Nigra

SNC: Sistema Nervioso Central

SNc: Sustantia Nigra de la pars compacta

SNr: Sustantia Nigra reticulata

SNP: Sistema Nervioso Periférico

STN: Núcleo subtalámico, por sus siglas en inglés

TAD: Transportador de Dopamina

TH: Tirosina hidroxilasa

UAM-X: Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco

VA: Núcleo ventral-anterior del tálamo

VEH: Vehículo

VL: Núcleo ventral-lateral del tálamo

VMAT-2: Transportador de monoaminas, por sus siglas en inglés

VTA: Área Tegmental Ventral, por sus siglas en inglés

Índice

I. AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES	4
II. AGRADECIMIENTOS PERSONALES	5
III. ABREVIATURAS	6
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	11
1. Índice de tablas	11
2. Índice de figuras	11
RESUMEN	18
1. INTRODUCCIÓN	19
1.1 La enfermedad de Parkinson	19
1.2. Epidemiología	21
1.3. Fisiopatología	21
1.3.1. Circuito anatómico de los ganglios basales	22
1.3.2. Pérdida de dopamina en el estriado	24
1.3.3. Cambios en la actividad neuronal de los ganglios basales	24
1.4. Dopamina	26
1.4.1. Vías dopaminérgicas	28
1.5. Tratamiento de la enfermedad de Parkinson	33
1.5.1. Tratamientos farmacológicos	33
1.6. Modelos experimentales de la EP en el campo de la investigación 35	
1.6.1 Modelos basados en el uso de toxinas	37

1.6.1.1. MPTP	37
1.6.1.2. 6-OHDA.....	37
1.7. Dolor	40
1.7.1. Proceso de nocicepción.....	40
1.7.2. Clasificación de dolor	40
2. ANTECEDENTES.....	43
2.1. Dolor en la EP	43
2.1.1. Clasificación del dolor en la EP	43
2.2. Dopamina y dolor en la EP	45
2.2.1. Evidencia clínica entre dopamina y dolor	45
2.3. Desarrollo de la nocicepción en un modelo de la EP con 6-OHDA..	46
2.4. Tratamiento del dolor en la EP	49
3. HIPÓTESIS.....	51
4. OBJETIVOS	51
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	51
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	51
2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	52
5.1. Animales	52
5.2. Fármacos	52
5.3. Lesión unilateral con 6-OHDA un modelo de la EP en rata	53
5.4. Conducta de giro	54
5.5. Plano inclinado	55

5.6. Viga de equilibrio	56
5.7. Prueba del cilindro.....	57
5.8. Campo abierto	58
5.9. Determinación del 50% del umbral de retiro de la pata (alodinia táctil)	59
5.11. Diseño experimental	61
5.12. Análisis de datos y estadística	62
6.0 RESULTADOS.....	64
6.1. Conducta de giro inducido por apomorfina	64
6.2. Plano inclinado	65
6.3. Viga de equilibrio	66
6.4. Ensayo del cilindro	67
6.5. Ensayo de campo abierto	68
6.6. Alodinia táctil	71
6.7. Posible efecto anti-alodínico de PPX en ratas lesionadas con 6-OHDA	72
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	74
7.1. Déficit motor	74
7.1.1 Conducta de giro	74
7.1.2. Plano inclinado y viga de equilibrio	75
7.1.3. Ensayo de cilindro	76
7.1.4. Campo abierto	76

7.2. Hipersensibilidad al dolor	78
7.2.1. Alodinia táctil.....	78
7.2.2. Efecto anti-alodínico de PPX	79
8. CONCLUSIONES	81
9. PERSPECTIVAS	82
11. BIBLIOGRAFÍA	83

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

1. Índice de tablas

Tabla 1. Síntomas motores y no-motores de la EP.	20
Tabla 2. Factores Modificables y No-Modificables de la EP.	21
Tabla 3. Componentes de los ganglios basales – Funciones en la señalización de dolor.....	32
Tabla 4. Tratamiento farmacológico para los síntomas de la EP	34
Tabla 5. Tabla comparativa de los modelos experimentales con neurotoxinas.	39

2. Índice de figuras

Figura 1. Dr. James Parkinson (1755-1824).	19
Figura 2. Cambios en la actividad del circuito motor en el área tálamocortical de los ganglios basales en la EP (modelo de flujo). Las flechas negras indican vías inhibitorias, las flechas azules indican vías excitatorias. El grosor de las flechas corresponde a su actividad. La dopamina al reducir la actividad de GPi/SNr facilita la actividad de las proyecciones neuronales del CM y de VA/VL del	

tálamocortical, lo que provoca una mayor activación en la corteza cerebral ocasionando una respuesta de movimiento. Abreviaturas: CM, núcleo centromedial del tálamo; AMC, área motora del cíngulo; D₁, D₂, subtipos de receptores dopaminérgicos; GPe, segmento externo del globus pallidus; GPi, segmento interno del globus pallidus; M₁, corteza primaria de la corteza; CPM, corteza premotora; NPP, núcleo pedunculopontino; AMS, área suplementaria motora; SNc, sustantia nigra pars compacta; SNr, sustantia nigra pars reticulata; STN, núcleo subtalámico; VA, núcleo ventral-anterior del tálamo; VL, núcleo ventro-lateral del tálamo. Modificado de Galvan y Wichmann, 2008 (Galvan y Wichmann, 2008).....23

Figura 3. Biosíntesis de la dopamina en una neurona pre-sináptica, su liberación y su proceso de degradación por las enzimas MAO y COMT (Dopamine, 2018).27

Figura 4. Proyección de la vía mesolímbica: del VTA y NA (figura tomada y modificada del Psycopharmacology Institue, Guzmán, 2016).28

Figura 5. Vía Mesocortical: proyección del VTA a la Corteza Pre-Frontal (PFC) (figura tomada y modificada del Psycopharmacology Institue, Guzmán, 2016).29

Figura 6. Vía nigroestriatal: proyección de la SNc al Ganglio Basal (estriato, putamen y caudado) (figura tomada y modificada del Psycopharmacology Institue, Guzmán, 2016).....29

Figura 7. Vía tuberinfundibular: Proyección del Hipotálamo a la Región Infundibular (figura tomada y modificada del Psycopharmacology Institue, Guzmán, 2016).....30

Figura 8. Modelos experimentales en animales utilizados en la investigación para comprender mejor la etiología de la EP. MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,4-tetrahidropiridina), 6-OHDA (6-hidroxidopamina), UCHL-1 (Carboxil-terminal ubiquitina hidrolasa, isoenzima L1), Parkin (Ubiquitina ligasa E3).	36
Figura 9. Mecanismo de acción de la neurotoxina 6-OHDA en una neurona dopaminérgica. La 6-OHDA entra a la célula dopaminérgica por el transportador de dopamina (DAT) o por el transportador de noradrenalina (NAT), este último puede ser bloqueado por el antagonista selectivo desipramina (DMI). Una vez dentro la 6-OHDA puede: a) sufrir autooxidación generando quinonas y radicales libres; b) metabolizarse por la enzima monoaminooxidasa tipo A (MAO-A) generando especies reactivas de oxígeno (EROS) que a su vez dañan a las proteínas estructurales o al ADN o c) ingresando a la mitocondria uniéndose al complejo I y III que conlleva a la producción de EROS. Todas estas acciones provocan la muerte celular programada o apoptosis en la neurona dopaminérgica (imagen tomada y modificada de Dauer y Przedborski, 2003).	38
Figura 10. Proceso de nocicepción.	40
Figura 11. Clasificación de dolor sugerida por Woolf, 2010. El dolor se puede clasificar por su curso temporal ya sea agudo o crónico, o en su defecto, por su origen neurofisiológico siendo nociceptivo, inflamatorio o patológico.	41
Figura 12. Clasificación de Dolor en la EP propuesto por Ford y colaboradores, 2010.	44
Figura 13. Posibles mecanismos fisiopatológicos involucrados en el dolor en la EP. Modificado de Conte et al., 2013.	46
Figura 14. Esquema representativo de la lesión con 6-OHDA en la SNc en la rata para generar el modelo de la EP.	53

Figura 15. Esquema representativo de la prueba de conducta de giro inducido por apomorfina en la rata para la evaluación indirecta del daño dopaminérgico causado por la lesión con 6-OHDA en la SNc.	54
Figura 16. Esquema representativo de la prueba de plano inclinado de la rata para la evaluación de la conducta motora antes y posterior a la lesión con 6-OHDA en la SNc.	55
Figura 17. Esquema representativo de la prueba de la viga de equilibrio en la rata para la evaluación de la conducta motora antes y posterior a la lesión con 6-OHDA en la SNc.	56
Figura 18. Esquema representativo de la prueba de cilindro en la rata para la evaluación de la conducta motora antes y posterior a la lesión con 6-OHDA en la SNc.....	57
Figura 19. Esquema representativo de la prueba de campo abierto en la rata para la evaluación de la conducta motora antes y posterior a la lesión con 6-OHDA en la SNc.	58
Figura 20. Esquema representativo de la evaluación de la alodinia táctil e hiperalgesia. A Representación del rack usado para la evaluación de alodinia táctil. B Hoja de registro del número de respuestas positivas “x” o número de respuestas negativas “o” durante el ensayo de alodinia táctil en una rata. C Imagen de los filamentos de von Frey, y señalado en un círculo rojo, el área de contacto de los estímulos mecánicas realizados con estos filamentos en las extremidades posteriores de las ratas.	60
Figura 21. Diseño experimental de la lesión dopaminérgica con 6-OHDA en la SNc y la evaluación del posible efecto anti-alodínico del pramipexol en ratas con el modelo de la EP inducidas con 6-OHDA.	62

Figura 22. A. Curso temporal o **B.** Histograma del número de giros a lo largo de 30 min del ensayo inducidos por apomorfina, ejecutados por las ratas de los diferentes grupos: NAÏVE (N), VEH (V) y con la lesión unilateral con 6-OHDA a las dosis de 6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, respectivamente, posterior a la lesión (12 días). Los datos se expresan como la media \pm E.E. de 8 animales por grupo. * $P \leq 0.05$ contra el grupo VEH. # $P \leq 0.05$ contra los grupos de 10 y 13 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. **A.** ANOVA de dos vías seguida de la prueba de Bonferroni. **B.** ANOVA de una vía seguida por una prueba de Tukey contra el grupo VEH.64

Figura 23. Gráficas de dispersión de puntos del Tiempo Recorrido (s) en ratas sin lesión (Naïve), falsamente operadas (Sham) y con lesión unilateral con 6-OHDA a las concentraciones de 6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ en la SNc a la semana previa a la lesión (semana 0); y en la segunda y la cuarta semana posteriores a la lesión (semana 2 y semana 4, respectivamente). Los datos se expresan como la media \pm E.E. de 8 animales por grupo. * $P \leq 0.05$ contra el grupo Naïve. ANOVA de una vía seguida por una prueba de Dunnett.65

Figura 24. Gráficas de dispersión de puntos del Tiempo de Permanencia (s) en ratas sin lesión (Naïve), falsamente operadas (Sham) y con lesión unilateral con 6-OHDA a las concentraciones de 6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ en la SNc en la semana previa a la lesión (semana 0); y en la segunda y la cuarta semana posteriores a la lesión (semana 2 y semana 4, respectivamente). Los datos se expresan como la media \pm E.E. de 8 animales por grupo. * $P \leq 0.05$ contra el grupo Naïve. ANOVA de una vía seguida por una prueba de Dunnett.66

Figura 25. Porcentaje promedio del uso de las extremidades anteriores sobre la pared del cilindro ipsilateral (IL), contralateral (CL) y ambas patas (AB) en animales sin lesión (NAÏVE), administración de vehículo (VEH, ácido ascórbico

0.02% + solución salina) y animales con lesión (6, 10, 13 y 16 µg/µl) con 6-OHDA. **A.** Antes de la lesión, **B.** 15 días y **C.** 30 días posteriores a la lesión. Los datos se expresan como la media ± E.E. de 8 animales por grupo. *P ≤ 0.05 contra el grupo VEH. ANOVA de dos vías seguida por una prueba Bonferroni.67

Figura 26. (A) Histograma del curso temporal del registro del número de cuadros recorridos en la prueba de campo abierto en los grupos Naïve, SHAM y con la lesión unilateral con 6-OHDA a las concentraciones de 6, 10, 13 y 16 µg/ µl, respectivamente, antes de la lesión (0 días) y posterior a la lesión (15 y 30 días). **(B)** Histograma del curso temporal del tiempo de congelamiento (bradicinesia) mostrado por las ratas NAÏVE, VEH y con la lesión unilateral con 6-OHDA a las concentraciones de 6.0, 10.0, 13.0 y 16.0 µg/ µl, respectivamente, antes de la lesión (0 días) y posterior a la lesión (15 y 30 días). Los datos se expresan como la media ± E.E. de 8 animales por grupo. *P ≤ 0.05 contra el grupo Naïve. ANOVA de una vía seguida por una prueba de Tukey contra el grupo Naïve.69

Figura 27. Planos del trayecto realizado por las ratas el día 30 posterior a la lesión con 6-OHDA. **A.** Grupo no lesionado (NAÏVE), **B.** Grupo falsamente lesionado (VEH), **C., D., E.** y **F.** Grupos con lesión en la vía nigroestriatal dopaminérgica (SNc) con 6-OHDA a diferentes dosis (6, 10, 13 and 16 µg/µl, respectivamente). 1 = punto de salida, 2 = punto de término.70

Figura 28. (A y B) Curso temporal del efecto antinociceptivo en ratas con la lesión unilateral con 6-OHDA en la SNc a diferentes dosis (6, 10, 13 y 16 µg/ µl, respectivamente) comparados con las ratas NAÏVE y VEH. El umbral del retiro de la pata se evaluó un día antes de la lesión y a los días 1, 2, 4, 7, 9, 11, 14, 16, 18, 21, 23, 25, 28, 30 y 32 posteriores a la lesión. **(B y D)** Histograma del Área Bajo la Curva (ABC) del 50% del umbral de retiro de la pata IL y CL,

respectivamente. Las barras muestran una disminución del umbral del retiro de las patas dependientes de la dosis de la neurotoxina. Los datos se expresan como la media \pm E.E. de 8 animales por grupo. *P \leq 0.05 contra el grupo Naïve. ANOVA de una vía seguida por una prueba de Tukey contra el grupo Naïve. .71

Figura 29. Curso temporal del 50% del umbral de respuesta de retiro de las patas ipsilateral (IL, **A** y **C**) y contralateral (CL, **B** y **D**) de la administración subcutánea (s.c.) con PPX en ratas con lesión en la vía nigroestriatal dopaminérgica (SNc) con 6-OHDA. Los datos se expresan como la media \pm E.E. de 8 animales por grupo. *P \leq 0.05 contra el grupo VEH. ANOVA de dos vías seguida de una prueba de Bonferroni.....73

RESUMEN

La Enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva crónica caracterizada por la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la *sustantia nigra* de la *pars compacta* (SNc) y la presencia de cuerpos de Lewy. Esta enfermedad produce alteraciones motoras (rigidez, bradicinesia, inestabilidad postural y temblor en reposo) y alteraciones no-motoras (déficit en el patrón del sueño, constipación, pérdida de la memoria y dolor). El dolor es el síntoma no-motor más molesto en etapas tempranas. Los mecanismos que subyacen al dolor en esta enfermedad no han sido del todo estudiados. Por lo anterior, surge la necesidad de estudiar la fisiopatología del dolor a través de modelos animales que emulen a la EP para su mejor entendimiento. El objetivo de este trabajo fue estudiar el desarrollo de alodinia táctil en un modelo de la EP inducida con la administración de 6-hidroxdopamina (6-OHDA) a diferentes dosis (6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la SNc en la rata. Para determinar el efecto causado por la administración de 6-OHDA en la conducta motora de las ratas, se utilizaron las pruebas de plano inclinado, la viga de equilibrio, el cilindro y el campo abierto. Para evaluar alodinia táctil así como el posible efecto anti-alodínico inducido por pramipexol (PPX), se utilizó el método *up-down* con los filamentos de von Frey. La inyección de 6-OHDA a las diferentes concentraciones disminuyó la ejecución de los animales en las pruebas motoras. La inyección de 6-OHDA aumentó significativamente la asimetría del porcentaje del uso de las patas anteriores en la prueba de cilindro. La lesión unilateral con 6-OHDA en la SNc redujo significativamente el 50% del umbral de retiro de la pata tanto ipsilateral (IL) como contralateral (CL) (alodinia táctil). Sólo la dosis más alta de 6-OHDA (16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) indujo el desarrollo de alodinia táctil en ambas patas a partir del día 18 posterior a la lesión con 6-OHDA. El tratamiento crónico con PPX (0.3 mg/kg, s.c.) incrementó significativamente del 50% del umbral de retiro de ambas patas llegando a valores basales a partir del cuarto día de administración. Estos resultados demuestran por primera vez que la administración unilateral de 6-OHDA es capaz de inducir alodinia táctil. Además, el PPX mostró un efecto analgésico en el modelo de lesión con 6-OHDA, motivo que permite sugerirlo como un fármaco que podría aliviar el dolor en pacientes con la EP.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 La enfermedad de Parkinson

La Enfermedad de Parkinson (EP) se describió por primera vez por el Dr. James Parkinson en su libro “*An Essay on the Shaking Palsy*”, publicado en 1817, definiéndola como: “Movimiento tembloroso involuntario, con disminución de la fuerza muscular en partes que no están activas e incluso cuando reposan; con tendencia a inclinar el tronco adelante y a cambiar de un ritmo de paseo al de carrera; los sentidos y la inteligencia están ilesos” (Parkinson, 1817). Esta enfermedad fue conocida como *paralysis agitans* entre los médicos hasta cincuenta años después con la llegada del médico francés, Jean-Martin Charcot, quien reconoció el trabajo realizado por James Parkinson y le otorgó el nombre de Enfermedad de Parkinson (Charcot y Bourneville, 1884).



Figura 1. Dr. James Parkinson (1755-1824).

La EP se caracteriza por la degeneración progresiva de las neuronas dopaminérgicas ubicadas en los ganglios basales y en la *Substantia Nigra* (SN), así como por la presencia generalizada de inclusiones citoplasmáticas compuestas principalmente de α -sinucleína (Cuerpos de Lewy) en los ganglios basales provocando la disminución de la concentración de dopamina en estas áreas y, a su vez, ocasionando alteraciones motoras como las discinesias (Fil *et al.*, 2013; Golbe *et al.*, 2010).

Los síntomas que acompañan a los individuos con la EP son alteraciones motoras y no-motoras (**Tabla 1**). Los síntomas motores de la EP están compuestos por los cuatro puntos cardinales que son: temblor, rigidez, acinesia (bradicinesia) e inestabilidad postural, mientras que los síntomas no-motores pueden ser: autonómicos, neuropsiquiátricos y sensoriales.

Tabla 1. Síntomas motores y no-motores de la EP.

SÍNTOMAS MOTORES	SÍNTOMAS NO-MOTORES		
	MOTORES	AUTÓNOMOS	NEUROPSIQUIÁTRICOS
<ul style="list-style-type: none"> • Temblor • Rigidez • Acinesia • Inestabilidad 	<ul style="list-style-type: none"> • Hiperhidrosis • Hipotensión ortostática • Disfunción sexual y urinaria • Alteraciones en el ritmo cardíaco • Insomnio 	<ul style="list-style-type: none"> • Apatía • Fatiga • Anhedonia • Depresión • Ansiedad • Ataques de pánico • Demencia • Psicosis 	<ul style="list-style-type: none"> • Temblores internos • Síndrome de pierna inquieta • Adormecimiento • Parestias • Alteraciones visuales • Dolor

Tanto los síntomas motores como los no-motores alteran la calidad de vida del paciente con la EP (Broen et al., 2012; Ford, 2010a; Wertheimer, 2016). Dentro de los síntomas no-motores del tipo sensorial, el dolor es el primer signo de deterioro precediendo a los síntomas motores (Ford, 2010; Parkinson, 1817; Wertheimer, 2016).

1.2. Epidemiología

La prevalencia de la EP a nivel mundial es del 0.1% al 0.3% en sujetos mayores de 65 años (Golbe et al., 2010). Se estima que en países desarrollados la prevalencia en la población oscila entre 0.3% y 1% en sujetos mayores de 60 años (Benito-León, 2018). En Estados Unidos de Norte América su incidencia es del 13.4 por 100,000 habitantes/año y su prevalencia es del 0.3% (Beiske et al., 2009; Fil et al., 2013; Golbe et al., 2010). En México existe una incidencia entre 40 a 50 casos por cada 100,000 habitantes/año (Sistema Nacional de Salud, 2010). Sin embargo, tanto la prevalencia como la incidencia de la EP es 1.5-2 veces mayor en hombres que en mujeres (Benito-León, 2018).

1.3. Fisiopatología

La etiología de la EP no se conoce todavía. Sin embargo, como en la mayor parte de las enfermedades crónicas, están involucrados factores no-modificables y factores modificables (**Tabla 2**). No obstante, el conocimiento de estos últimos no está tan desarrollado y los resultados en muchos de los estudios han sido contradictorios (Benito-León, 2018).

Tabla 2. Factores Modificables y No-Modificables de la EP.

FACTORES NO-MODIFICABLES	FACTORES MODIFICABLES	FACTORES QUE PODRÍAN DISMINUIR EL RIESGO DE LA EP
<ul style="list-style-type: none">•Envejecimiento•Sexo masculino•Raza blanca•Genética•Temblor esencial	<ul style="list-style-type: none">•Exposición a tóxicos•Traumatismo craneoencefálico	<ul style="list-style-type: none">•Tabaquismo•Cafeína•Consumo de Alcohol•Fármacos (ibuprofeno)•Hiperuricemia

La EP se ha correlacionado con un aumento del estrés oxidante debido a afecciones mitocondriales, procesos neuroinflamatorios, excitotoxicidad, factores neurotróficos y disfunciones proteosomales que concluyen con la muerte celular programada o la apoptosis (Angelova *et al.*, 2018; Davies *et al.*, 2017; Hald y Lotharius, 2005).

En la EP están involucradas diferentes alteraciones neurodegenerativas que afectan a diversas regiones del cerebro como tálamo, corteza cerebral y ganglios basales. Estas alteraciones en la actividad neuronal se deben a la pérdida de dopamina en el putamen y otros núcleos de los ganglios basales, y a la pérdida de las dendritas espinales de las neuronas dopaminérgicas en el estriado. Estas deficiencias irrumpen la actividad neuronal a lo largo de los ganglios basales y de sus proyecciones al tálamo y la corteza provocando la activación aberrante de estas áreas.

1.3.1. Circuito anatómico de los ganglios basales

Los ganglios basales están conformados por el estriado (núcleo caudado y putamen), el *globus pallidus* interno y externo (GPi y GPe, respectivamente), el núcleo subtalámico (STN) y la *sustantia nigra* (SN) dividida en la *pars reticulata* (SNr) y la *pars compacta* (SNc). A su vez, estas estructuras conforman los circuitos motores, asociativos y límbicos (Middleton y Strick, 2000).

La actividad anormal en el circuito motor de los ganglios basales se puede observar por la conformación de las diferentes áreas que están implicadas en el desarrollo de la EP (**Figura 2**). El circuito motor, estriado y STN reciben proyecciones glutamatérgicas aferentes de la corteza cerebral o del tálamo. Las proyecciones entre el estriado y los GPi/SNr se dividen en vías directas (monosinápticas, receptores dopaminérgicos tipo D₁) e indirectas (receptores dopaminérgicos tipo D₂) por la vía intercalada entre GPe y STN. La salida de GPi/SNr llega hasta los núcleos ventral-anterior y ventral-lateral del tálamo (VA y VL, respectivamente) que sucesivamente proyectan de regreso a la corteza cerebral (Gerfen et al., 1990). Estas proyecciones de los ganglios basales, en menor número, se extienden hasta los núcleos centromediales y parafasciculares intralaminares del tálamo (CM y Pf, respectivamente), y en estructuras del tronco cerebral, como son el colículo superior, núcleo pedunculopontino (NPP) y la formación reticular.

El estriado presenta proyecciones dopaminérgicas provenientes de la SNc. La proyección nigroestriatal termina predominantemente en el cuello de las espinas

dendríticas de las neuronas del estriado espinoso medio (NEM), recibiendo terminaciones corticoestriatales (DeLong y Wichmann, 2007).

Esta disposición de las proyecciones dopaminérgicas les confieren la capacidad para regular la transmisión corticostriatal involucrada en el circuito motor de los ganglios basales (Galvan y Wichmann, 2008). La vía directa e indirecta presentan acciones opuestas: al activarse la vía directa se inhibe la actividad de GPi/SNr, de este modo se activan las interacciones talamocorticales, mientras que al activar la vía indirecta sucede lo contrario. De este modo, la dopamina reduce la actividad de GPi/SNr, facilitando la actividad de las proyecciones neuronales del tálamo, y a su vez, provoca una mayor activación en la corteza cerebral lo que ejerce una respuesta de movimiento (Galvan y Wichmann, 2008).

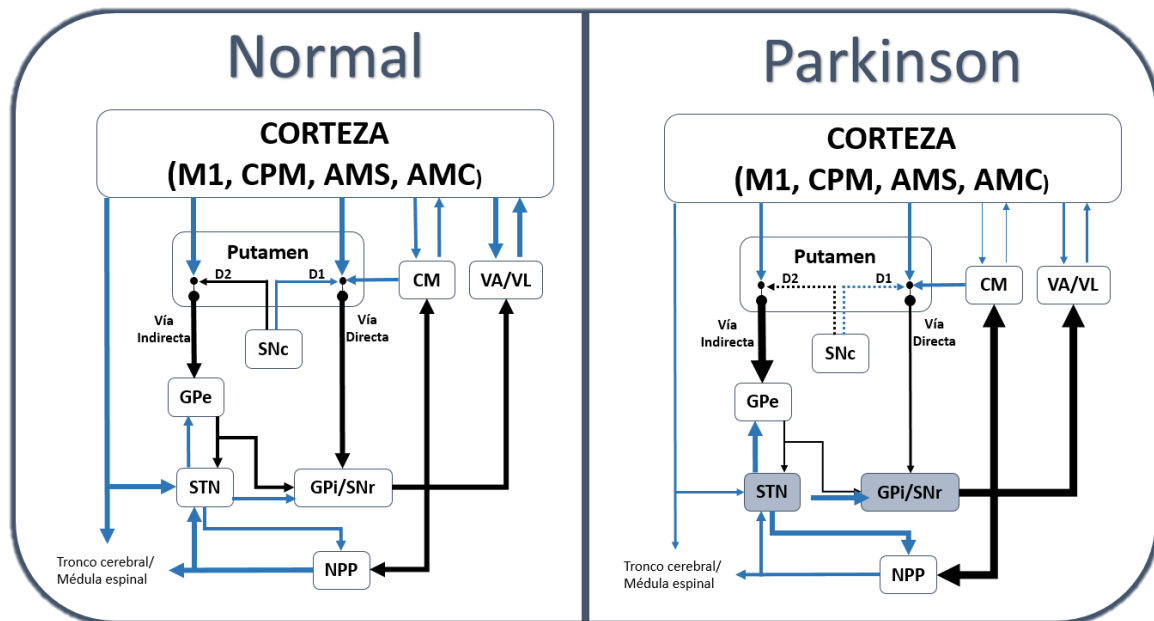


Figura 2. Cambios en la actividad del circuito motor en el área tálamo-cortical de los ganglios basales en la EP (modelo de flujo). Las flechas negras indican vías inhibitorias, las flechas azules indican vías excitatorias. El grosor de las flechas corresponde a su actividad. La dopamina al reducir la actividad de GPi/SNr facilita la actividad de las proyecciones neuronales del CM y de VA/VL del tálamo, lo que provoca una mayor activación en la corteza cerebral ocasionando una respuesta de movimiento. Abreviaturas: CM, núcleo centromedial del tálamo; AMC, área motora del cíngulo; D1, D2, subtipos de receptores dopaminérgicos; GPe, segmento externo del *globus pallidus*; GPi, segmento interno del *globus pallidus*; M1, corteza primaria de la corteza; CPM, corteza premotora; NPP, núcleo pedunculo-pontino; AMS, área suplementaria motora; SNc, sustantia nigra pars compacta; SNr, *sustantia nigra pars reticulata*; STN, núcleo subtalámico; VA, núcleo ventral-anterior del tálamo; VL, núcleo ventro-lateral del tálamo. Modificado de Galvan y Wichmann, 2008 (Galvan y Wichmann, 2008).

1.3.2. Pérdida de dopamina en el estriado

La degeneración de neuronas dopaminérgicas en la SNc y en sus proyecciones al estriado es un proceso lento y puede tomar décadas para que se desarrolle la EP. Los síntomas motores y no-motores pueden aparecer después de al menos un 70% de la pérdida de estas neuronas (Bernheimer et al., 1973). Esta disminución dopaminérgica desencadena la disminución de neuronas dendríticas espinales en las NEM y en el putamen (receptores tipo D₂, preferentemente), generando una hiperpolarización en las neuronas por una irregularidad en la actividad de los canales de calcio (Zaja-Milatovic et al., 2005). Además, se incrementa la expresión de ARNm de los receptores de dopamina tipo D₂ en el estriado de pacientes con la EP y en modelos animales (Aubert et al., 2005). De esta manera, la expresión del receptor dopaminérgico tipo D₁ disminuye en la vía directa, mientras que la expresión del receptor tipo D₂ está elevada en la vía indirecta de las NEM (Gerfen et al., 1990).

1.3.3. Cambios en la actividad neuronal de los ganglios basales

La actividad en los ganglios basales se altera por cambios en la velocidad del disparo neuronal, en la actividad oscilatoria, en la sincronización neuronal y por el desarrollo de ráfagas anormales en distintas áreas del cerebro (Galvan y Wichmann, 2008).

Estas alteraciones se correlacionan en diferentes estudios. Por ejemplo, en animales lesionados con 6-OHDA (neurotoxina selectiva a neuronas dopaminérgicas) disminuye la actividad de la vía directa de la NEM comparado con los animales no-lesionados. Sin embargo, en la vía indirecta aumentan las respuestas espontáneas en animales lesionados con 6-OHDA (Mallet et al., 2006). Aunado a este estudio, la lesión en chimpancés con la EP con MPTP (neurotoxina, subproducto del análogo sintético de la heroína MPPP, daña a neuronas dopaminérgicas) incrementa la actividad en el STN y en el GPi, y reduce la actividad en el GPe (Bergman et al., 1994; Miller y DeLong, 1988; Soares et al., 2004). También, estos núcleos de los ganglios basales (STN, GPi y GPe) están involucrados en el aumento aberrante de ráfagas neuronales, siendo el STN el primero en desarrollar estas descargas ante la disminución de las neuronas dopaminérgicas (Breit et al., 2007; Wichmann y Soares, 2006).

Por otro lado, se ha documentado que distintos sistemas de neurotransmisión compensan la disminución de dopamina, tal es el caso de la transmisión GABAérgica, ya que, ante la disminución de dopamina se genera un aumento en la liberación de GABA en el GPe lo que ocasiona una disminución de GABA en el GPi y en la SNr, tanto en pacientes con la EP como en modelos animales (Katz *et al.*, 2005). De igual forma se ha observado la actividad en la transmisión glutamatérgica, donde los receptores de tipo NMDA y AMPA disminuyen su expresión en diferentes núcleos de los ganglios basales de pacientes con la EP y en modelos experimentales (Betarbet *et al.*, 2000; Dunah *et al.*, 2000).

En cuanto a los cambios en las actividades de oscilación se ha observado que los intervalos de frecuencia de las ondas alfa y beta se alteran en GPe, GPi y STN en chimpancés lesionados con MPTP y en pacientes con la EP durante neurocirugía (Gatev *et al.*, 2006; Weinberger *et al.*, 2006). También, se ha observado que en pacientes sanos las neuronas vecinas a los ganglios basales muestran una descoordinación (Bergman *et al.*, 1994). Sin embargo, ante la disminución dopaminérgica esta asimetría aumenta junto con la actividad oscilatoria. De esta manera se genera una desincronización patológica (Hammond *et al.*, 2007).

Estas alteraciones generan cambios tanto a nivel del tálamo como en la corteza cerebral. Ya que se ha observado que en el tálamo disminuye el umbral de calcio, lo cual podría indicar una hiperpolarización de las neuronas talámicas, posiblemente inducida por el incremento de GABA en los ganglios basales (Magnin *et al.*, 2000). Para el caso de la corteza cerebral en pacientes con la EP, se ha encontrado que la activación cortical ante una tarea motora disminuye, específicamente en el área suplementaria motora (ASM) (Brooks, 1997; Haslinger *et al.*, 2001).

Los hallazgos anteriores contribuyen a asociar a la EP como un fenómeno de red; es decir, en la EP no se encuentran alteraciones neuronales individuales y aisladas. Por el contrario, las áreas que conforman los ganglios basales, mencionados anteriormente, regulan la comunicación neuronal para la función correcta, en este caso, del movimiento en pacientes con la EP.

1.4. Dopamina

La dopamina presenta una estructura catecol (un anillo de benceno con dos grupos hidroxilos) con un grupo amino en la cadena etilo, es intrínsecamente básica lo cual le permite protonarse en ambientes ácidos. El estado protonado es altamente soluble pero puede oxidarse y producir oxígeno y radicales libres.

La dopamina se sintetiza principalmente en médula y algunas glándulas suprarrenales. El precursor de la dopamina, L-DOPA, puede sintetizarse de manera indirecta por el aminoácido fenilalanina o directamente por el aminoácido no esencial tirosina. Para poder ejercer su actividad neuronal es indispensable su biosíntesis en el sistema nervioso central (SNC), ya que no posee la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica (BHC).

La dopamina proviene de la L-fenilalanina que es convertida en L-tirosina por la fenilalanina hidroxilasa con oxígeno molecular (O_2) y tetrahydrobiopterina como cofactores. La L-tirosina se transforma a L-DOPA por la enzima tirosina hidroxilasa con cofactores como la tetrahydrobiopterina, O_2 y hierro (Fe^{2+}). Posteriormente, la L-DOPA se transforma a dopamina por la enzima descarboxilasa de ácidos aromáticos (DOPA descarboxilasa) con fosfato de piridoxal como cofactor (**Figura 3**). La dopamina, a su vez, es precursor de otros neurotransmisores como es la noradrenalina y la adrenalina.

La actividad de la dopamina termina cuando es recapturada por el transportador de dopamina (DAT) para formar nuevamente vesículas pre-sinápticas ó al ser degradada por las enzimas MAO (ambas isoformas A y B), COMT (que está expresada en neuronas post-sinápticas y células gliales pero ausente en neuronas pre-sinápticas) (Wood, 2008). Al ser degradada por estas dos enzimas se generan dos metabolitos: el ácido homovanílico (HVA) por la enzima MAO, y el metabolito ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC).

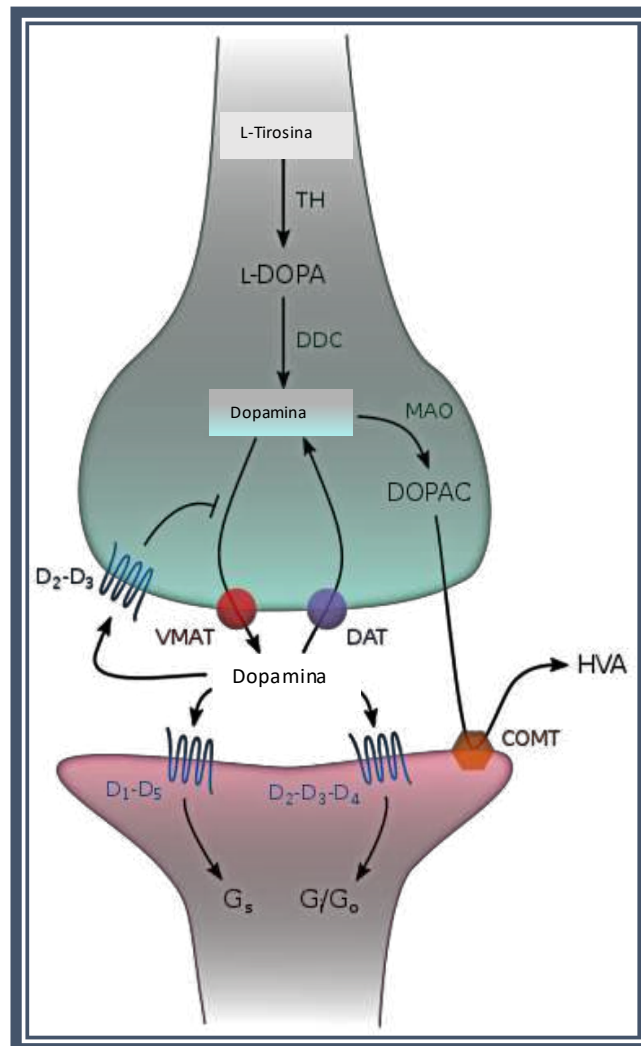


Figura 3. Biosíntesis de la dopamina en una neurona pre-sináptica, su liberación y su proceso de degradación por las enzimas MAO y COMT (Dopamine, 2018).

La dopamina estimula a receptores de tipo D₁ (D₁ y D₅, incrementan los niveles de AMPc) y tipo D₂ (D₂, D₃ y D₄, disminuyen los niveles de AMPc).

La disfunción en el sistema dopaminérgico causa diversas enfermedades en el SNC, como la esquizofrenia, síndrome de piernas inquietas, déficit de atención y la EP.

1.4.1. Vías dopaminérgicas

La dopamina tiene un papel importante en la parte motora, pero también es necesario señalar su participación en la señalización del dolor.

El sistema dopaminérgico se origina a lo largo de las áreas de la SN, del Área Tegmental Ventral (VTA, por sus siglas en inglés) y del hipotálamo. A su vez, sus proyecciones llegan a diferentes áreas del cerebro conformando diferentes vías dopaminérgicas, las cuales son: mesolímbica, mesocortical, nigroestriatal y tuberoinfundibular, y que a continuación se describen (Wood, 2008):

a) Vía mesolímbica

Ubicación anatómica: VTA al Núcleo Accumbens (NA).

Función fisiológica: Motivación, área de recompensa y emociones.

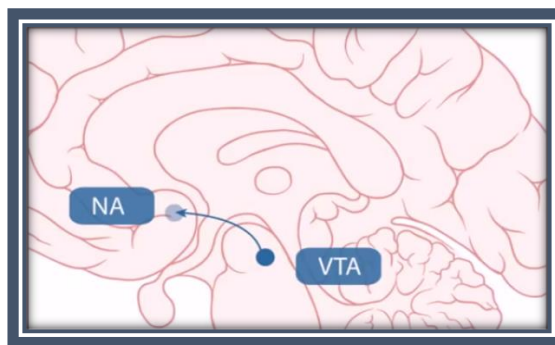


Figura 4. Proyección de la vía mesolímbica: del VTA y NA (figura tomada y modificada del Psychopharmacology Institute, Guzmán, 2016).

b) Vía mesocortical

Ubicación anatómica: Proyección del VTA a la Corteza Pre-Frontal (PFC, por sus siglas en inglés).

Función fisiológica: Implicado en la cognición, funciones de ejecución (región Dorso Lateral de la PFC), emociones y afecto (región Medial Ventral de la PFC). Cuando existe daño desencadena enfermedades como psicosis y esquizofrenia.

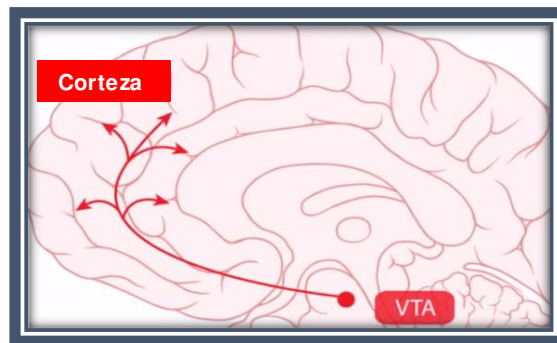


Figura 5. Vía Mesocortical: proyección del VTA a la Corteza Pre-Frontal (PFC) (figura tomada y modificada del Psycopharmacology Institue, Guzmán, 2016).

c) Vía nigroestriatal

Ubicación anatómica: Proyección de la SNc a los Ganglios Basales (Estriato, putamen y caudado).

Función fisiológica: Movimiento (vía directa e indirecta del movimiento, relevante en la EP).

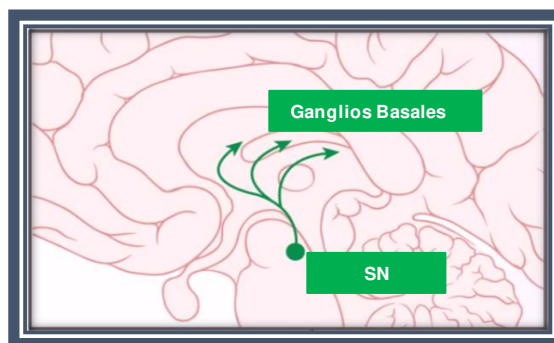


Figura 6. Vía nigroestriatal: proyección de la SNc al Ganglio Basal (estriato, putamen y caudado) (figura tomada y modificada del Psycopharmacology Institue, Guzmán, 2016).

d) Vía tuberoinfundibular

Ubicación anatómica: Del hipotálamo (núcleo arcuato y núcleo periventricular) a la región Infundibular (mediana eminencia).

Función fisiológica: La dopamina es liberada a la circulación portal conectando a la región eminencia mediana con la glándula pituitaria anterior. Dicha dopamina inhibe tónicamente la liberación de prolactina.

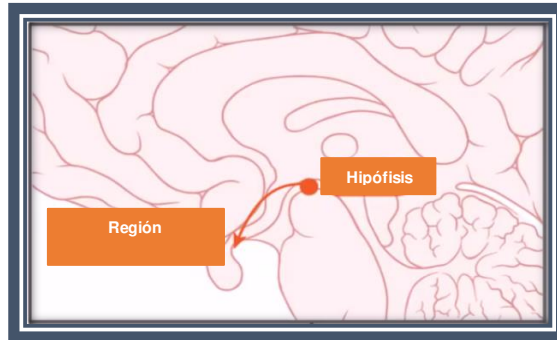


Figura 7. Vía tuberoinfundibular: Proyección del Hipotálamo a la Región Infundibular (figura tomada y modificada del Psychopharmacology Institute, Guzmán, 2016).

Actualmente se reconocen dos vías neuroanatómicas principales por las que se modula la percepción del dolor en la EP (Fil *et al.*, 2013):

1. La vía lateral; está integrada por el tracto espinotalámico. En ésta, la conducción va directamente al tálamo y a la corteza sensorial.
2. La vía espino-reticulotalámica medial; se proyecta hasta el núcleo medular y el mesencéfalo que realizan sinapsis con el núcleo gigantocelularis, región parabraquial gris periacueductal, hipotálamo, nucleointralaminar y medial del tálamo, insula, operúnculoparietal, corteza singularada, amígdala e hipocampo. La conducción por las fibras es más lenta y en esta vía el dolor está asociado con el sistema nervioso autónomo ya que favorece las dimensiones autonómicas, afectivas y cognitivas del dolor, principalmente en la EP (Ford, 2010).

Cada una de estas vías ha demostrado tener un impacto en la señalización del dolor en la EP (Borsook *et al.*, 2010; Fil *et al.*, 2013; Granovsky *et al.*, 2013). Varias de ellas atraviesan áreas que conforman a los ganglios basales, las

cuales intervienen en la señalización del dolor (**Tabla 3**) (Borsook *et al.*, 2010). Con ello se asume que la patología de la EP puede contribuir a diferentes cambios en estas regiones que alteran la percepción del dolor.

Las neuronas dopaminérgicas de SN, caudato, putamen y *globus pallidus* responden a estímulos nocivos (Chudler y Dong, 1995).

Cuando se altera la vía dopaminérgica existen cambios directos en la transmisión de señales nociceptivas del asta dorsal de médula espinal vía los ganglios basales de manera descendente, o cambios indirectos en donde la degeneración neuronal ocasionada por la EP modifica sistemas como el noradrenérgico, serotoninérgico, colinérgico y peptidérgico (Boecker *et al.*, 1999; Jellinger, 1999, 1991). De esta manera, se sugiere que el sistema dopaminérgico dentro de los ganglios basales (especialmente la vía nigroestriatal) está involucrado en el procesamiento del dolor por lo que la degeneración de esta vía podría dar lugar a un deterioro del sistema somato-sensorial y a la génesis del dolor (Almeida *et al.*, 2004; Hagelberg *et al.*, 2002; Jarcho *et al.*, 2012; Potvin *et al.*, 2009; Scott *et al.*, 2006; Wood, 2008; Zengin-Toktas *et al.*, 2013).

Tabla 3. Componentes de los ganglios basales – Funciones en la señalización de dolor.

Región	Función Nociceptiva	Referencia
Caudado	<ul style="list-style-type: none"> • Prevención de riesgos dolorosos. • Disminución de sensibilidad dolorosa después de la administración con apomorfina. • Codificación de la intensidad de los estímulos nocivos para minimizar el daño corporal. • Refuerzo de comportamiento incluyendo el dolor. 	Chudler, 1998; Koyama <i>et al.</i> , 2000; Yelnik, 2008
Putamen	<ul style="list-style-type: none"> • Modulación somatotópica del dolor. • Variaciones en las valoraciones subjetivas del dolor. 	Bingel <i>et al.</i> , 2004; Scott <i>et al.</i> , 2006
Núcleo Accumbens	<ul style="list-style-type: none"> • Ganancia afectiva del sistema de recompensa y de estímulos nocivos. • Procesamiento de la prominencia emocional del dolor. 	Becerra <i>et al.</i> , 2001; Borsook <i>et al.</i> , 2006; Scott <i>et al.</i> , 2006
<i>Globus Pallidus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Codificación de repertorios conductuales. • La estimulación cerebral profunda inhibe el dolor. • Analgesia por uso de morfina. 	Adler <i>et al.</i> , 1997; Anagnostakis <i>et al.</i> , 1992; Stancanello <i>et al.</i> , 2009; Yelnik, 2008
Núcleo Subtalámico	<ul style="list-style-type: none"> • Supresión de mensajes neuronales. • Inhibición conductual. • Regulación de ejecución cortical; procesamiento del comportamiento emocional, cognitivo y motor. 	Benabid <i>et al.</i> , 2005; Eagle y Baunez, 2010; Yelnik, 2008
Sustancia Nigra	<ul style="list-style-type: none"> • Respuestas heterogéneas a estímulos nocivos. 	Brown <i>et al.</i> , 2009

1.5. Tratamiento de la enfermedad de Parkinson

1.5.1. Tratamientos farmacológicos

Aunque todavía no existe una cura para la EP, existen diversas clases de medicamentos que ayudan a mitigar los síntomas de la enfermedad. De acuerdo con la guía clínica de la EP en México en la terapia farmacológica se puede enumerar el uso de L-DOPA más carbidopa, los agonistas dopaminérgicos, los inhibidores de las enzimas catecol-o-metiltransferasa (COMT) y de la monoaminoxidasa B (MAO-B), entre otros. Además se recomienda un enfoque multidisciplinario, considerando la dieta y la fisioterapia (Consejo de Salubridad General, 2008).

Como primera línea de tratamiento se recomienda la administración combinada de L-DOPA más carbidopa seguido de la administración de agonistas dopaminérgicos, y posteriormente la administración combinada de los agonistas dopaminérgicos con los inhibidores de la COMT, la MAO-B o anticolinérgicos (**Tabla 4**). La apomorfina, agonista dopaminérgico, sólo se administra como tratamiento de rescate; es decir, cuando el paciente ya no responde a la terapia habitual con los otros agonistas dopaminérgicos (Alonso Cánovas *et al.*, 2011).

Tabla 4. Tratamiento farmacológico para los síntomas de la EP

TIPO DE FÁRMACO	EJEMPLOS	DESCRIPCIÓN	BIBLIOGRAFÍA
PRECURSOR DOPAMINÉRGICO	L-DOPA más Carbidopa	Debido a que la dopamina no puede atravesar la BHC, se utiliza L-DOPA, un precursor metabólico de la dopamina. El aumento de las concentraciones de dopamina en la SNc y el estriado se debe a su descarboxilación por la enzima dopamina-descarboxilasa (DDC) en las terminales presinápticas del cuerpo estriado. Suele administrarse con un inhibidor de la enzima descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos (AAD) para evitar su descarboxilación en la periferia. Efectos adversos: mareos, pérdida de apetito, diarrea, boca seca, dolor de boca y garganta, estreñimiento, confusión, debilidad y dolor de cabeza.	Golbe <i>et al.</i> , 2010; Paillé <i>et al.</i> , 2007; Toth <i>et al.</i> , 2015
AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS	Pramipexol (D ₃ , K _i =8.51 nM) Ropinirol (D ₃ , K _i =7.43 nM) Rotigotina (D ₃ , K _i =8.40 nM) *Apomorfina (D ₄ , K _i =43.37 nM)	No incrementan los niveles de dopamina en el cerebro, estos mimetizan la actividad de esta catecolamina. Efectos adversos: somnolencia, náuseas, mareos e hipotensión.	Alonso Cánovas <i>et al.</i> , 2011; Kvermo <i>et al.</i> , 2008; Zesiewicz <i>et al.</i> , 2010
INHIBIDORES DE LA COMT	Entacapona Tolcapona	La COMT es una enzima encargada de degradar a las catecolaminas por medio de la transferencia de un grupo metilo. Por lo tanto, estos fármacos previenen la degradación de la L-DOPA. Se usan principalmente en el "período off" de pacientes con la EP. Efectos adversos: mareos, diarrea, malestar estomacal, somnolencia, alucinaciones, confusión y debilidad con o sin fiebre.	Lees, 2008; Sampaio y Ferreira, 2010
INHIBIDORES DE LA MAO-B	Selegilina Rasagilina	Ayudan a prevenir la degradación de dopamina. Prescritos individualmente o en combinación con fármacos antiparkinsonianos. Pueden causar náuseas, boca seca, aturdimiento, constipación y/o alucinaciones.	Alonso Cánovas <i>et al.</i> , 2011; Golbe <i>et al.</i> , 2010
ANTICOLINÉRGICOS	Biperideno Prociclidina Benzatropina Bornaprina Escopolamina	Los antagonistas selectivos de los receptores muscarínicos (M ₁) bloquean parcialmente la actividad colinérgica en los ganglios basales y aumentan la biodisponibilidad de la dopamina al bloquear su reabsorción y almacenamiento. Se administran como terapia complementaria a los anteriores. Efectos adversos: sequedad boca, visión borrosa, midriasis, aumento presión introcular, estreñimiento y retención urinaria.	DiMascio <i>et al.</i> , 1976; Wertheimer, 2016

*La apomorfina sólo se administra como tratamiento de rescate. La flecha indica la primera línea de tratamiento para la EP, L-DOPA (morado), seguida de los agonistas dopaminérgicos (rosa) hasta culminar con la administración combinada de los agonistas dopaminérgicos con los inhibidores de la COMT (amarillo), la MAO-B (verde) o anticolinérgicos (azul).

1.6. Modelos experimentales de la EP en el campo de la investigación

Los procesos bioquímicos en la EP pueden atribuirse principalmente al estrés oxidante consecuente a afecciones mitocondriales, procesos neuroinflamatorios, excitotoxicidad, factores neurotróficos y disfunciones proteosomales, induciendo muerte celular programada (apoptosis). Estos procesos pueden reproducirse con fármacos (α -metil-*para*-tirosina, anfetaminas y reserpina), plaguicidas (rotenona y paraquat), modelos genéticos (α -sinucleína y mutaciones en los genes *DJ-1*, *Parkina* y *UCHL-1*) y/o modelos con neurotoxinas (MPTP y 6-OHDA). Estos modelos permiten establecer, en mayor o menor medida, algunas de las características de la EP, permitiendo estudiar su fisiopatología y el diseño de tratamientos que coadyuven a la terapéutica de la EP (Castañeda-Achutiguí *et al.*, 2015; Duty y Jenner, 2011). Sin embargo, el uso de toxinas como 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) y 6-hidroxidopamina (6-OHDA) resultan ser los más empleados (Dauer y Przedborski, 2003) (**Figura 8**).

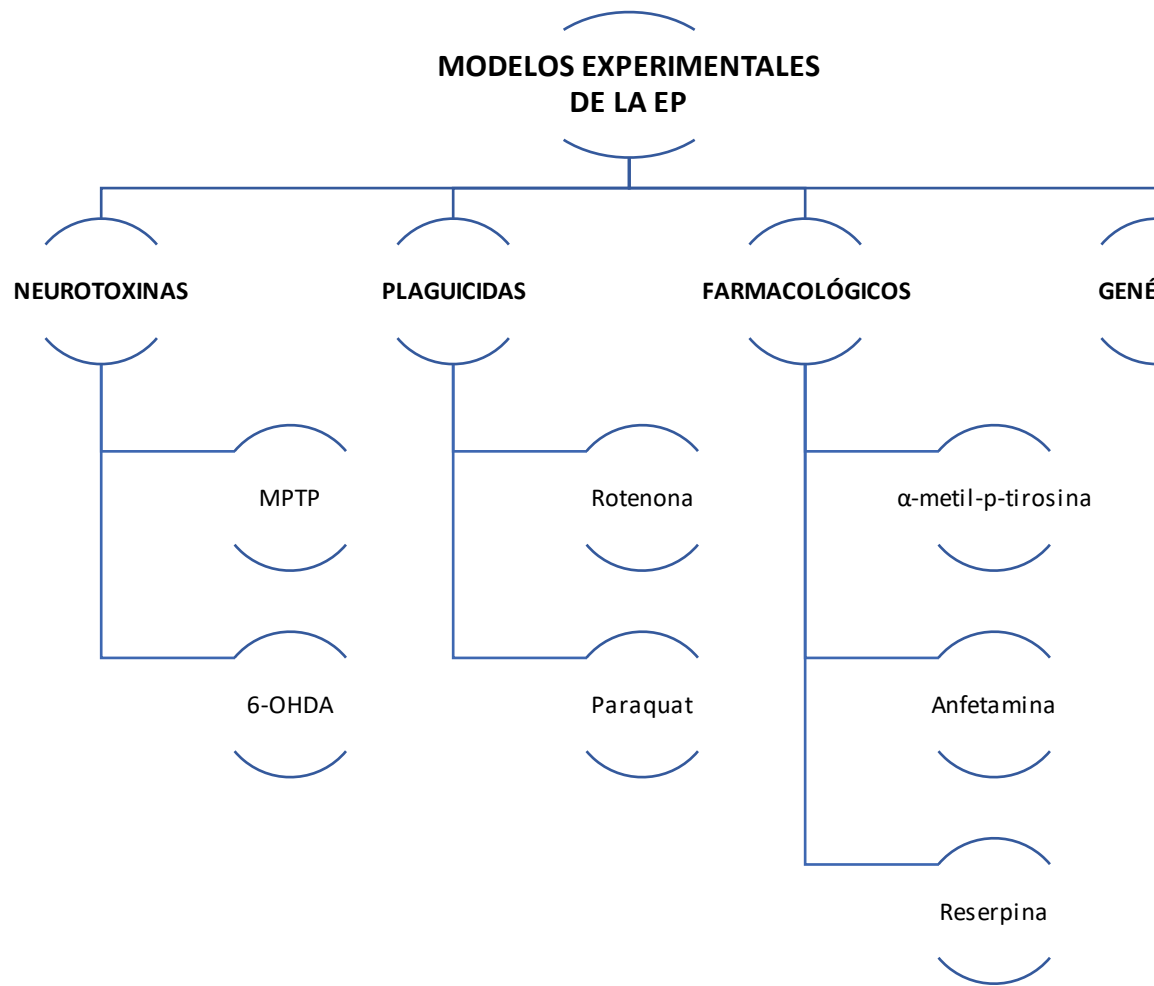


Figura 8. Modelos experimentales en animales utilizados en la investigación para comprender mejor la etiología de la EP (1,2,3,4-tetrahidropiridina), 6-OHDA (6-hidroxidopamina), UCHL-1 (Carboxil-terminal ubiquitina hidrolasa, isoenzima)

1.6.1 Modelos basados en el uso de toxinas

1.6.1.1. MPTP

La neurotoxina 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) es un subproducto del análogo sintético de la heroína, la 1-metil-4-fenilpropionoxipiperidina (MPPP) (Langston, 2017). El MPTP es una molécula lipofílica con gran capacidad de atravesar la BHC. Una vez en el cerebro, la toxina es captada por las células gliales y por acción de la enzima MAO-B se transforma en el metabolito activo 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺), el cual es captado por las células dopaminérgicas a través del transportador de dopamina (TAD). Una vez en el citoplasma de las células dopaminérgicas puede almacenarse en las vesículas mediante la acción del transportador vesicular de monoaminas (VMAT, por sus siglas en inglés), o en las mitocondrias donde inhibe el complejo I de la cadena mitocondrial transportadora de electrones, lo que provoca la disminución de la producción de ATP y el aumento de la producción de radicales libres que, secundariamente, produce la muerte de las células dopaminérgicas de la SN, a través de mecanismo inflamatorios como respuesta al estrés oxidante (Fernagut *et al.*, 2004; Langston, 2017). El MPTP es capaz de atravesar la BHC por lo que resulta ser un modelo no invasivo y práctico para inducir la EP en animales (Bové *et al.*, 2005).

1.6.1.2. 6-OHDA

La 6-hidroxidopamina (6-OHDA) es un análogo de la dopamina (Breese y Traylor, 1970), su ingreso a la célula está mediado por el DAT, el cual es un importador dependiente del gradiente de la concentración de Na⁺ generado por la ATPasa de Na⁺/K⁺ y requiere de la adición de dos iones de Na⁺ en el dominio extracelular para que la 6-OHDA unida a un ion de Cl⁻ pueda acoplarse. Una vez que esto ocurre, se produce un cambio conformacional del transportador que permite el ingreso de Na⁺ y de la 6-OHDA a la célula. También la 6-OHDA inhibe la cadena respiratoria mitocondrial, generando una producción elevada de H₂O₂ y radicales libres. Además, producto de su metabolismo se transforma en quinonas, y a su vez, favorece la producción de radicales libres. Lo anterior provoca una irrupción en la actividad de las enzimas antioxidantes, lo que

provoca un daño irreparable en la estructura y una deficiencia en el metabolismo de las neuronas dopaminérgicas (Schwartzing y Huston, 1996) (**Figura 9**).

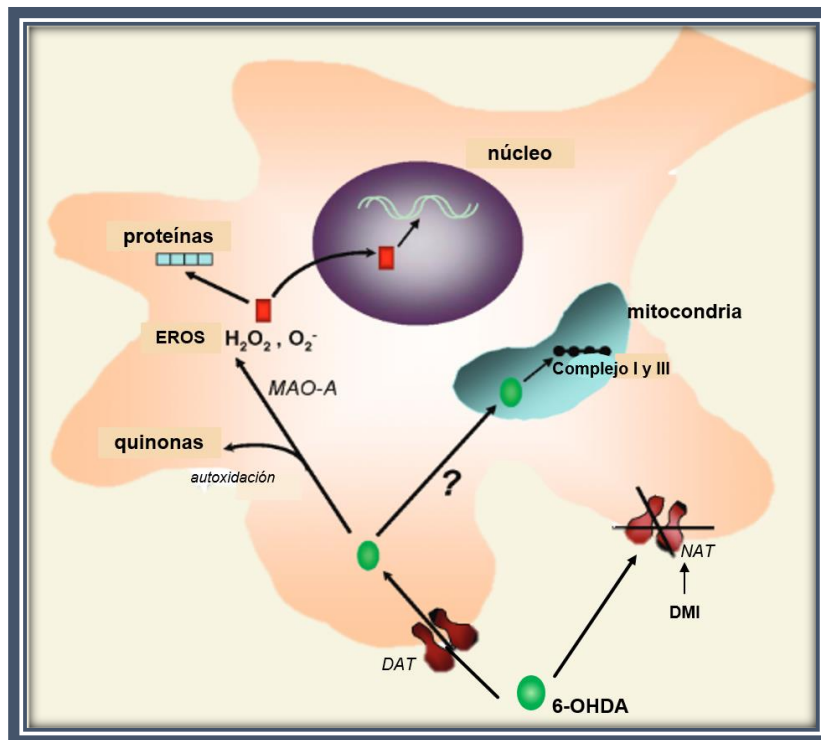


Figura 9. Mecanismo de acción de la neurotoxina 6-OHDA en una neurona dopaminérgica. La 6-OHDA entra a la célula dopaminérgica por el transportador de dopamina (DAT) o por el transportador de noradrenalina (NAT), este último puede ser bloqueado por el antagonista selectivo desipramina (DMI). Una vez dentro la 6-OHDA puede: a) sufrir autooxidación generando quinonas y radicales libres; b) metabolizarse por la enzima monoaminoxidasa tipo A (MAO-A) generando especies reactivas de oxígeno (EROS) que a su vez dañan a las proteínas estructurales o al ADN o c) ingresando a la mitocondria uniéndose al complejo I y III que conlleva a la producción de EROS. Todas estas acciones provocan la muerte celular programada o apoptosis en la neurona dopaminérgica (imagen tomada y modificada de Dauer y Przedborski, 2003).

Las neuronas dopaminérgicas de la SNc son vulnerables al estrés oxidante inducido por la 6-OHDA ya que poseen niveles basales elevados de especies reactivas de oxígeno (ERO), así como niveles bajos de glutatión-peroxidasa, enzima que reduce el peróxido de hidrógeno a agua evitando así el daño causado por las ERO. A su vez, la dopamina tiene alta susceptibilidad a autooxidarse y convertirse en neuromelanina, propiciando la formación de radicales hidroxilo (OH^\cdot), que al combinarse con el hierro acumulado, normalmente en altas concentraciones en las neuronas dopaminérgicas, afecta su capacidad de eliminación (Blesa *et al.*, 2015; Dias *et al.*, 2013; Hald y Lotharius, 2005; Hwang, 2013; ZHOU *et al.*, 2008). Sin embargo, hay

subpoblaciones de neuronas dopaminérgicas en la SNc que expresan proteínas que unen calcio, como son la calretinina (CR) y calbindina (CB), las cuales impiden la acumulación de calcio intracelular, evitando la consecuente excitotoxicidad de la 6-OHDA. Actualmente, no se conoce el número exacto de neuronas que constituyen estas subpoblaciones dopaminérgicas dentro de la SNc; pero se sugiere que la presencia de estas subpoblaciones podría explicar la persistencia de un 10% de las neuronas dopaminérgicas en la SNc posterior al tratamiento con 6-OHDA, independientemente de la dosis y del sitio de inyección (Glinka *et al.*, 1997; Roedter *et al.*, 2001; Steiner *et al.*, 1985).

Tabla 5. Tabla comparativa de los modelos experimentales con neurotoxinas.

MODELOS	SINTOMAS		PATOLOGIA	VENTAJAS	DESVENTAJAS
MPTP	AGUDO	Alteración motora y coordinación de movimientos	Muerte neuronal dopaminérgica masiva. Reducción de los niveles de dopamina en estriado. No presenta inclusiones intracelulares.	Administración sistémica. Modelo bien caracterizado. Validez constructiva.	Altamente tóxico para el experimentador. Fiabilidad reducida.
	CRÓNICO	Alteraciones motoras menos evidentes	Muerte neuronal dopaminérgica parcial. Reducción de inervación dopaminérgica en estriado. No presenta inclusiones intracelulares.		
6-OHDA	Alteración motora posterior a la lesión bilateral. Actividad rotacional posterior a lesión unilateral.		Reducción de niveles de dopamina en el estriado. Pérdida masiva de neuronas dopaminérgicas. No presenta inclusiones intracelulares.	Modelo bien caracterizado.	Requiere inyección intracerebral. Neurodegeneración rápida y masiva.

Adaptación de Bové y Perier, 2012 (Bové y Perier, 2012)

1.7. Dolor

De acuerdo a la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) el dolor se define como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular real o potencial y que puede ser descrito de acuerdo a la magnitud de dicho daño” (IASP, 2015).

1.7.1. Proceso de nocicepción

La nocicepción no es sinónimo de dolor. Este proceso puede ser necesario para que ocurra el dolor, pero no es suficiente para que se presente clínicamente. La nocicepción se refiere a las manifestaciones neurofisiológicas generadas por estímulos nocivos, mientras que el dolor involucra la percepción de un estímulo aversivo y requiere de la elaboración de impulsos sensoriales (Almeida *et al.*, 2004).

La nocicepción es la codificación y el procesamiento de estímulos nocivos en el sistema nervioso, es decir, la capacidad del cuerpo para detectar un daño potencial. El proceso de nocicepción comienza cuando un *estímulo nocivo* (de naturaleza química, mecánica o térmica) es detectado por las terminaciones nerviosas libres especializadas llamadas “nociceptores” (IASP, 2015). Posteriormente, este estímulo se *transduce* en una señal eléctrica que se conduce por los nervios secundarios y se *transmite* al asta dorsal de la médula espinal donde la señal se *modula* (amplificándola o inhibiéndola) para finalizar en las áreas supraespinales para que sea *percibido* de manera consciente (**Figura 10**) (Woolf, 2010).



Figura 10. Proceso de nocicepción.

1.7.2. Clasificación de dolor

El dolor se puede clasificar de acuerdo a su temporalidad, en agudo (3 meses) y crónico (> 3 meses) (Díaz, 2005), y/o por su origen neurofisiológico, en dolor fisiológico (agudo) y dolor patológico (crónico) (**Figura 11**) (Woolf, 2010).

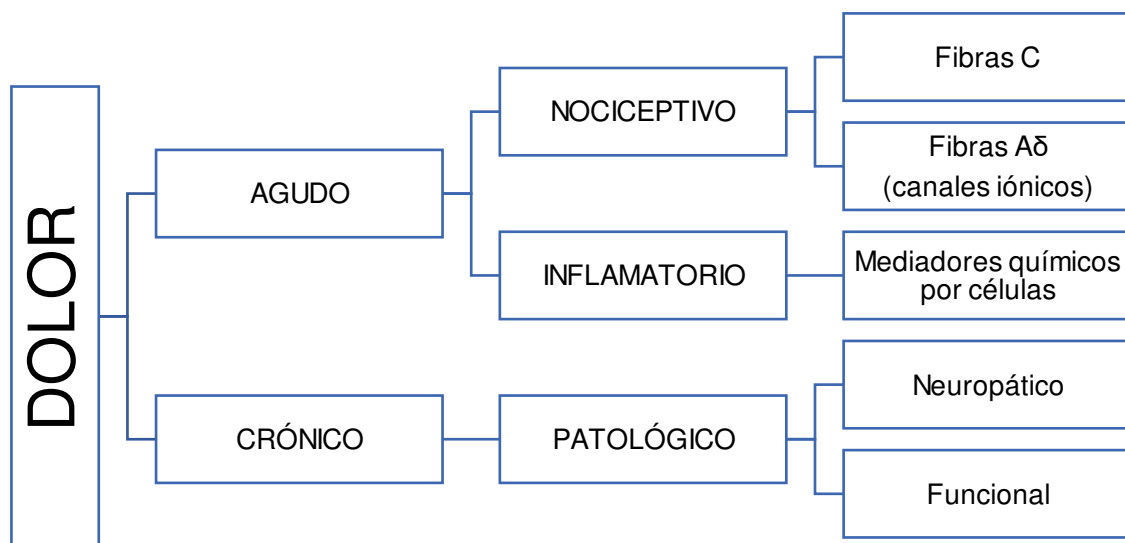


Figura 11. Clasificación de dolor sugerida por Woolf, 2010. El dolor se puede clasificar por su curso temporal ya sea agudo o crónico, o en su defecto, por su origen neurofisiológico siendo nociceptivo, inflamatorio o patológico.

De acuerdo a la clasificación por su origen neurofisiológico, el dolor puede ser nociceptivo, inflamatorio y patológico (Woolf, 2010).

- ❖ Dolor Nociceptivo: es adaptativo y de protección. Se presenta por algún estímulo nocivo como calor, frío, estímulos mecánicos o químicos. Este tipo de dolor es esencial para preservar la integridad corporal; es decir, nos previene de un daño potencial.
- ❖ Dolor Inflamatorio: también es adaptativo y de protección. Sin embargo, está asociado a un daño tisular existente y a la activación del sistema inmunológico que causa una hipersensibilidad dolorosa en la región, promoviendo la reparación del tejido.
- ❖ Dolor Patológico: es maladaptativo debido a un funcionamiento anormal en el sistema nervioso. Este dolor puede surgir por daño en el sistema nervioso (dolor neuropático), o en ciertas condiciones donde no existe daño o inflamación (dolor funcional).

- Dolor Neuropático: surge de una lesión en el Sistema Nervioso Central (SNC) o Periférico (SNP). Se caracteriza por presentar respuestas de dolor espontáneo, alodinia e hiperalgesia.
 - La alodinia es una respuesta dolorosa a un estímulo que no es nocivo (IASP, 2015).
 - La hiperalgesia es una respuesta dolorosa exacerbada ante un estímulo que normalmente provoca dolor (IASP, 2015).

- Dolor Funcional: no es evidente una lesión en el SNC y/o SNP. Las condiciones en donde puede presentarse este tipo de dolor incluyen enfermedades como la fibromialgia, el síndrome del colon irritable, dolores de cabeza por tensión y cistitis intersticial, entre otros. No existe un estímulo nocivo o la inflamación periférica es mínima.

2. ANTECEDENTES

2.1. Dolor en la EP

El dolor es un síntoma importante y preocupante en la EP. A menudo se pasa por alto la presencia de dolor en los pacientes con la EP, a pesar de que éste puede ser lo suficientemente grave para eclipsar los síntomas motores de la enfermedad. James Parkinson escribió que los síntomas dolorosos pueden ser el primer signo de deterioro y describe las sensaciones dolorosas detalladas que se encuentran en el inicio de la enfermedad (Parkinson, 1817; Wertheimer, 2016). En pacientes con la enfermedad avanzada, el dolor es percibido como el sexto síntoma más molesto (Broen *et al.*, 2012; Golbe *et al.*, 2010). En estudios recientes se ha reportado que el dolor afecta hasta un 85% de los pacientes que tienen Parkinson, cifra que es significativamente más alta que la que presenta la población general (Lee *et al.*, 2006; Tinazzi *et al.*, 2006).

Aunque la prevalencia del dolor en la EP sea alta, la comprensión de la fisiopatología del dolor es escasa (Borsook *et al.*, 2010; Chudler y Dong, 1995; Conte *et al.*, 2013; Wood, 2008). Es por ello, que resulta de suma importancia el estudio de los mecanismos fisiopatológicos involucrados, así como el estudio de los tratamientos que posiblemente podrían prevenir y/o revertir el desarrollo y/o el mantenimiento del dolor.

2.1.1. Clasificación del dolor en la EP

El dolor en la EP puede considerarse como un síntoma de tipo primario, es decir, cuando su origen reside en el SNC, o de tipo secundario que se presenta como resultado de la rigidez, discinecias o distonía generadas por la EP (Beiske *et al.*, 2009; Fil *et al.*, 2013).

Tomando en cuenta lo anterior, los pacientes con la EP pueden presentar diferentes tipos de dolor, en los que se incluyen: el músculo-esquelético, radicular-neuropático, dolor distónico, central parkinsoniano y dolor acatísico (Fil *et al.*, 2013; Ford, 2010).

Aún no existe un consenso para clasificar el dolor en pacientes con la EP (Snider *et al.*, 1976). Sin embargo, la clasificación del dolor en la EP más aceptada es la propuesta por Ford, la cual se divide en 5 tipos (Ford, 2010) (**Figura 12**).

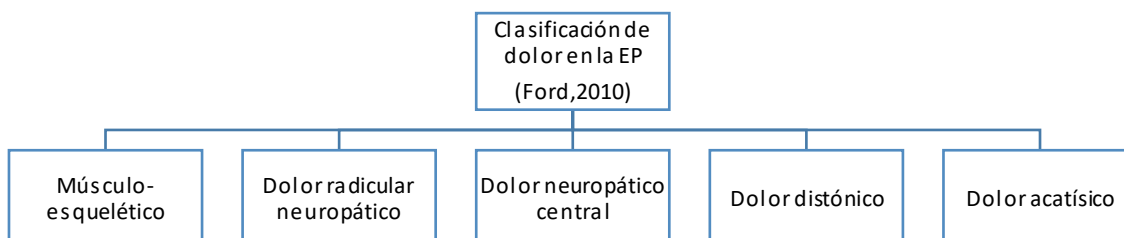


Figura 12. Clasificación de Dolor en la EP propuesto por Ford y colaboradores, 2010.

- a) Dolor músculo-esquelético: Se presenta por la rigidez producida por la enfermedad, la deformidad esquelética u origen reumatológico. Puede aparecer en etapas tempranas o preceder a otros síntomas (motores) y suele manifestarse en forma de dolor de espalda, cuello, hombros o piernas. Afecta típicamente a regiones proximales de una extremidad (Ford, 2010).
- b) Dolor radicular neuropático: Aparece en el territorio de distribución de un dermatoma en relación a una radiculopatía en aquellos pacientes con la EP con artrosis y patología discal o más raramente en un área de distribución periférica en el caso de una mononeuropatía o polineuropatía. Su origen se debe al daño focal radicular compresivo (Ford, 2010).
- c) Dolor neuropático central: Se caracteriza por sensaciones quemantes y oprimentes en determinadas partes del cuerpo que frecuentemente resultan difíciles de definir. No es específico de la EP, puede presentarse en otras enfermedades, como la esclerosis múltiple (Ford, 2010).
- d) Dolor distónico: Se localiza en la extremidad donde el paciente tiene la distonía, generalmente en la pierna, aunque a veces afecta el cuello o el brazo. Suele ser de gran intensidad y aparece en períodos “off”. Se ha

sugerido que la denervación dopaminérgica podría inducir una hipersensibilidad central a los estímulos dolorosos a través de conexiones entre los ganglios basales y el tálamo (Ford, 2010).

- e) Dolor acatisico: La acatisia, o inquietud extrema (incapacidad de estar quieto) es frecuente e incapacitante. Algunos pacientes con acatisia parkinsoniana son incapaces de sentarse quietos, acostarse en una cama, conducir un automóvil, comer en una mesa o asistir a una reunión social. A consecuencia de la acatisia, los pacientes pueden perder el sueño y aislarse socialmente (Ford, 2010).

2.2. Dopamina y dolor en la EP

2.2.1. Evidencia clínica entre dopamina y dolor

La relación entre dopamina y dolor se puede ejemplificar mejor por evidencias de estudios clínicos en donde se estudia la relación entre los umbrales nociceptivos en pacientes con la EP y el uso de fármacos indicados en esta enfermedad, como es el caso de la L-DOPA. Los umbrales térmicos dolorosos en pacientes con la EP se encuentran disminuidos como consecuencia del daño dopaminérgico. Sin embargo, la administración de L-DOPA aumenta significativamente el umbral térmico (Slaoui *et al.*, 2007). Estos datos sugieren que la dopamina no sólo ocasiona un déficit motor sino que está directamente relacionada a los cambios en los umbrales nociceptivos en pacientes con la EP y que pueden aminorarse tras la terapia dopaminérgica de esta enfermedad.

La administración de L-DOPA reduce significativamente la activación de áreas involucradas en la percepción del dolor como es la corteza derecha de la insula y la corteza izquierda del cíngulo anterior (Brefel-Courbon *et al.*, 2005). Además, la administración con L-DOPA aumenta el umbral del reflejo de flexión nociceptivo (RIII) en pacientes con la EP. En contraste, no existen efectos aparentes en pacientes sanos (Gerdelat-Mas *et al.*, 2007).

En conclusión, el dolor es común entre los pacientes con la EP, ya que existen cambios en la morfología y en los mecanismos tanto centrales como periféricos

del sistema nervioso en las regiones de los ganglios basales y de las vías dopaminérgicas (**Figura 13**) (Conte *et al.*, 2013). También, la atenuación de estas anomalías, a causa de la administración con L-DOPA en pacientes con la EP, sugiere que la disfunción puede estar ocurriendo en áreas centrales del cerebro donde la dopamina regula tanto la función autonómica como la percepción del dolor. Por lo anterior, al existir evidencia de la relación dopamina-dolor, es necesario tomar en cuenta dicha vía de neurotransmisión para poder generar alternativas terapéuticas que ayuden a controlar, mitigar o eliminar el dolor en la EP (Jarcho *et al.*, 2012).

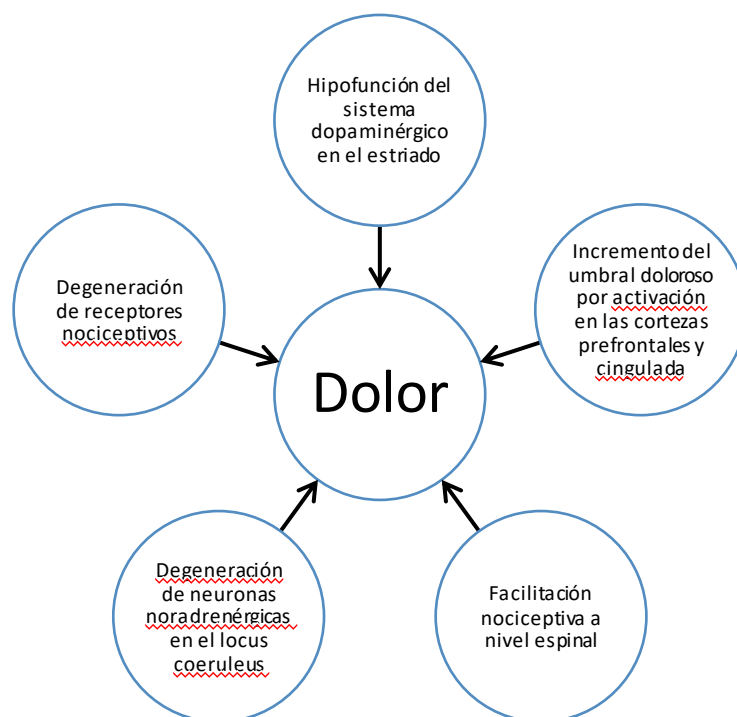


Figura 13. Posibles mecanismos fisiopatológicos involucrados en el dolor en la EP. Modificado de Conte *et al.*, 2013.

2.3. Desarrollo de la nocicepción en un modelo de la EP con 6-OHDA

Cuando se aplica un estímulo nocivo se generan cambios en la actividad de las neuronas de segundo orden. La lesión en el SNC se altera y genera cambios en las vías nociceptivas causando respuestas nociceptivas como hiperalgesia y alodinia.

Los mecanismos que subyacen las respuestas de hiperalgesia y alodinia en modelos animales lesionados con 6-OHDA son poco claros, aunque se conozca

que la neurotransmisión dopaminérgica como no-dopaminérgica están implicadas.

El modelo de la EP con 6-OHDA permite emular el síntoma no-motor del dolor. Zengin-Toktas y colaboradores en el 2013 realizaron un modelo con lesión bilateral en el haz medial del prosencéfalo con 6-OHDA en rata para observar el posible desarrollo de hiperalgesia mecánica. Ellos observaron que la lesión dopaminérgica disminuye el umbral de retiro de la pata en la primera semana. En este estudio no se especificó si la medición nociceptiva fue en la pata contralateral, ipsilateral o ambas con respecto al lado de la lesión (Zengin-Toktas *et al.*, 2013).

Dieb y colaboradores realizaron de igual forma una lesión bilateral en la SNc para generar el daño en la vía nigrostriatal. Ellos observaron que la lesión generaba dolor ante un estímulo con aire en el área trigeminal de la rata a partir del cuarto día posterior a la administración con 6-OHDA. Estos datos sugieren que la administración con 6-OHDA en la SNc desencadena alodinia mecánica en el área trigeminal de la rata (Dieb *et al.*, 2014). Posteriormente, ellos realizaron una comparación entre un modelo de dolor neuropático, constricción crónica del nervio infraorbital (CCI-IoN, por sus siglas en inglés) y el modelo de la EP inducida con 6-OHDA en la rata (lesión unilateral y bilateral con 6-OHDA en la SNc). En este análisis comparativo observaron que, ante un estímulo de soplo en la cara de la rata, se obtienen valores nociceptivos orofaciales similares entre un modelo u otro, y que la amplitud del puntaje nociceptivo en el curso temporal no varía entre el modelo con CCI-IoN y el modelo con 6-OHDA. Sin embargo, las ratas con la lesión bilateral tuvieron puntajes nociceptivos más altos con respecto al modelo de dolor neuropático o ratas lesionadas de manera unilateral. Con esto, se demuestra por primera vez que el modelo con 6-OHDA en la SNc es capaz de generar alodinia orofacial en ratas lesionadas y que resulta comparable con un modelo de dolor neuropático (Dieb *et al.*, 2016).

Además, se ha observado que la lesión unilateral con 6-OHDA en el estriado favorece el desarrollo de alodinia táctil a partir de la tercera semana posterior a la lesión (Chudler y Lu, 2008) o 30 días posteriores a la lesión (da Rocha *et al.*, 2013).

En análisis inmunohistoquímico se ha visto la participación de c-Fos. Se sabe que después de ejercer un estímulo nocivo, c-Fos sirve como indicador cuando se activa el asta dorsal espinal y las neuronas del haz prosencefálico. El uso de tetrahidropalmatina, un analgésico aislado de una hierba medicinal china, potencia la modulación descendente del dolor a través del bloqueo de los receptores dopaminérgicos tipo D₂ en el estriado y el núcleo accumbens, provocando la disminución de la expresión de c-Fos en el asta dorsal posterior a un estímulo con formalina (Hu y Jin, 1999). Además, existe evidencia que la lesión unilateral con 6-OHDA en el haz prosencefálico medial incrementa la expresión de c-Fos en el núcleo espinal del nervio trigémino posterior a un estímulo químico (formalina 4%, en la parte ipsilateral superior de la boca, s.c.) (Maegawa *et al.*, 2015). También, ratas lesionadas con 6-OHDA muestran una disminución de la expresión de c-Fos en el núcleo paraventricular (PVN, por sus siglas en inglés) posterior a la inyección con formalina en la parte dorsal de la pata posterior (Tassorelli *et al.*, 2007).

Estos datos sugieren que la merma de dopamina inducida por la lesión con 6-OHDA puede alterar el funcionamiento del sistema medial del dolor, que es un circuito involucrado en los aspectos afectivos y cognitivos del dolor; así como en procesos de memoria del dolor y respuestas autonómicas (Maegawa *et al.*, 2015). Es importante mencionar que los modelos anteriormente descritos varían en la zona de lesión (SNc y estriado) y dosis. Además, todos ellos manifiestan el desarrollo de alodinia táctil e hiperalgesia mecánica o química. No obstante, no hacen mención de un curso temporal que permita observar a partir de qué día se manifiesta dicha conducta nociceptiva, lo cual, resulta importante tener en cuenta para poder realizar los ensayos de interés en un modelo de la EP incluyente, es decir, que permita emular la mayor parte de las características tanto motoras como no-motoras de esta enfermedad.

2.4. Tratamiento del dolor en la EP

Los pacientes con la EP que presentan dolor recurren a tratamientos con analgésicos para mitigar esta molestia. Existe un reporte donde se estima que un 52.4% de los pacientes con la EP usan analgésicos, aunque se desconoce si su consumo es por automedicación o si corresponde al tratamiento indicado por su médico (Broen *et al.*, 2012). Además, el dolor es frecuentemente menospreciado por profesionales de la salud con experiencia y se estima que el 40.5% de los pacientes con la EP no reportan el dolor a su médico tratante, por lo que no existe un manejo terapéutico adecuado (Beiske *et al.*, 2009).

Estudios diversos sugieren que el dolor de tipo inflamatorio se presenta con mayor frecuencia en pacientes con la EP, ya que puede ser causado por temblor, rigidez, distonía, quemaduras y/o heridas musculoesqueléticas (moretones, fracturas; generalmente ocasionadas por caídas). Las áreas más comunes del cuerpo donde existe dolor son cuello, espalda alta y extremidades (Jarcho *et al.*, 2012; Skogar y Lokk, 2016; Wertheimer, 2016). En la EP es menos frecuente que se presente el dolor neuropático, y si lo hay, muchos autores lo relacionan de manera indirecta por la presencia de otras enfermedades (síndrome del túnel carpiano y neuropatía diabética, entre otras) sin tomar en cuenta que puede ser parte de la sintomatología propia de la EP. En este caso, las sensaciones pueden expresarse como quemazón, adormecimiento, estremecimiento, sensaciones punzantes o descargas eléctricas (Jarcho *et al.*, 2012).

La administración de L-DOPA redujo la percepción de dolor en pacientes con la EP (Gerdelat-Mas *et al.*, 2007). Además, el tratamiento con L-DOPA en sujetos con la EP en períodos "off" aumentó el umbral nociceptivo en comparación con los pacientes con la EP sin tratamiento (Brefel-Courbon *et al.*, 2005; Litvinenko *et al.*, 2009; Nebe y Ebersbach, 2009; Slaoui *et al.*, 2007). En contraste, algunos estudios han demostrado que la L-DOPA no mejora los umbrales de dolor en los pacientes con la EP (Gierthmühlen *et al.*, 2010; Tinazzi *et al.*, 2008, 2009, 2010). Aunado a esto, Perrotta *et al.* (2011) demostró que el tratamiento con L-DOPA no aumenta el umbral nociceptivo en los pacientes con la EP sino que, además, permite la sensibilización al dolor (Perrotta *et al.*, 2011).

Otro fármaco empleado en el tratamiento de la EP es el pramipexol (PPX, agonista dopaminérgico de los receptores tipo D₃) (Park, 2017). Actualmente, no se cuenta con estudios clínicos que indiquen si el PPX disminuye el dolor en esta enfermedad. En ratas tratadas con 6-OHDA para emular la EP se observó que la administración intraperitoneal (i.p.) de PPX (1 mg/kg), posterior a las 5ta. semana de la lesión, aumentó el umbral nociceptivo ante estímulos térmicos pero no ante estímulos mecánicos (Cao *et al.*, 2016).

Lo anterior expone la necesidad de estudiar el dolor en la EP. En primera instancia porque no existe información suficiente que permita comprender la fisiopatología de la EP y; segundo, porque las opciones terapéuticas son escasas para el manejo del dolor en esta enfermedad. Es por ello, que resulta de suma importancia estudiar la fisiopatología a través de modelos animales que emulen la EP para su mejor comprensión y así probar tratamientos farmacológicos que ayuden a mejorar la calidad de vida de los pacientes con la EP.

3. HIPÓTESIS

La administración de 6-OHDA en la SNc induce alodinia táctil en ratas.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

- Estandarizar el desarrollo de la alodinia táctil posterior a la administración de 6-OHDA en la SNc.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Administrar unilateralmente 6-OHDA a diferentes dosis en la SNc (6,10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) para causar una lesión dopaminérgica y obtener un modelo de la EP en rata.
 - 1.1. Evaluar la actividad motora por medio de las pruebas del plano inclinado, la viga de equilibrio, el cilindro y el campo abierto en las ratas con lesión dopaminérgica.
 - 1.2. Evaluar el daño en la vía nigroestriatal posterior a la administración unilateral con 6-OHDA en la SNc por medio de la conducta de giro inducido por apomorfina en rata.
2. Evaluar la alodinia táctil producida por la administración de 6-OHDA (6,10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) con el método *up-down* en ratas con lesión dopaminérgica.
3. Evaluar el posible efecto anti-alodínico de pramipexol (0.3-3 mg/kg/día, 10 días) en ratas con la lesión dopaminérgica.

2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

5.1. Animales

Se utilizaron ratas Wistar macho de 280-300g proporcionadas por la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL, UAM-Xochimilco, Ciudad de México), el protocolo de experimentación fue aprobado por el CICUAL-UAM-X No. 148. Las ratas se mantuvieron en un ambiente controlado con cambio de luz (08:00-20:00), temperatura (22 ± 2 °C) y humedad (60%) con libre acceso a comida y agua. Los ensayos fueron realizados conforme a la Guía de los Estándares Éticos para la Investigación Experimental de Dolor en Animales (Zimmermann, 1983) y conforme al Comité Ético del cuidado animal institucional UAM-Xochimilco. La lesión dopaminérgica se realizó bajo anestesia y se hizo todo el esfuerzo para minimizar el sufrimiento y el número de animales para este proyecto. Las ratas se mantuvieron bajo condiciones libres de patógenos.

5.2. Fármacos

La 6-hidroxidopamina (6-OHDA; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) y apomorfina (Tocris-Bioscience, Bristol, UK) se disolvieron en solución salina al 0.9% adicionando 0.02% de ácido ascórbico. El pramipexol (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) se disolvió en solución salina 0.9%.

5.3. Lesión unilateral con 6-OHDA un modelo de la EP en rata

Las ratas se anestesiaron con una mezcla de ketamina (60 mg/kg i.p.) y xilacina (10 mg/kg i.p.). Las ratas se colocaron en un marco estereotáxico (Stoelting, CA, USA). A los animales se les administró 6-OHDA (0.5 μ l/min) unilateralmente en la SNc después de haberse disuelto en un vehículo (solución salina + 0.02% ácido ascórbico) en un depósito a diferentes dosis (6, 10, 13 y 16 μ g/ μ l) en las siguientes coordenadas (en mm relativo a bregma y en la superficie de la dura madre): Anteroposterior (AP) -4.0; Lateral (L) \pm 0.8; Dorsoventral (DV) -8.0; con la barra de diente a \pm 3.2 (**Figura 14**). Las ratas del grupo control (VEH) recibieron sólo el vehículo en las mismas coordenadas.

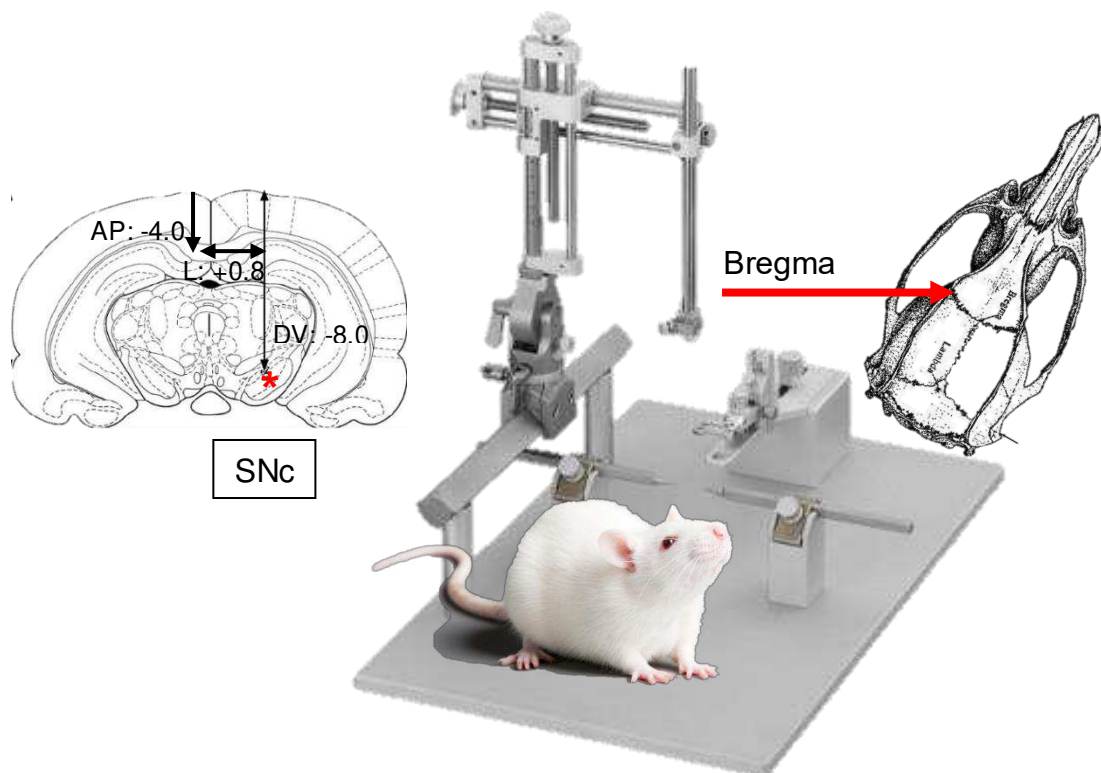


Figura 14. Esquema representativo de la lesión con 6-OHDA en la SNc en la rata para generar el modelo de la EP.

5.4. Conducta de giro

Las ratas se colocaron en un cilindro de observación de 25 cm de diámetro por 30 cm de altura, permitiéndoles moverse libremente. Los animales fueron acondicionados por 10 min y posteriormente se les administró apomorfina (0.1 mg/kg, s.c.) colocándolos inmediatamente después nuevamente en el cilindro. El número de giros CL realizados por la rata se cuantificaron por minuto a lo largo del ensayo (45 min) a los 14 días posteriores a la lesión dopaminérgica (**Figura 15**). Para ser tomado en cuenta el giro, la rata debe lograr los 360° sobre su eje (Ungerstedt y Arbuthnott, 1970). Aquellas ratas que presentaron un número de giros CL ≥ 300 fueron consideradas para la prueba de alodinia. El número de giros CL realizados por las ratas se cuantificó como el promedio de giros realizados por grupo \pm E.E. (Campbell *et al.*, 2014; Iancu *et al.*, 2005; Mendieta *et al.*, 2009).

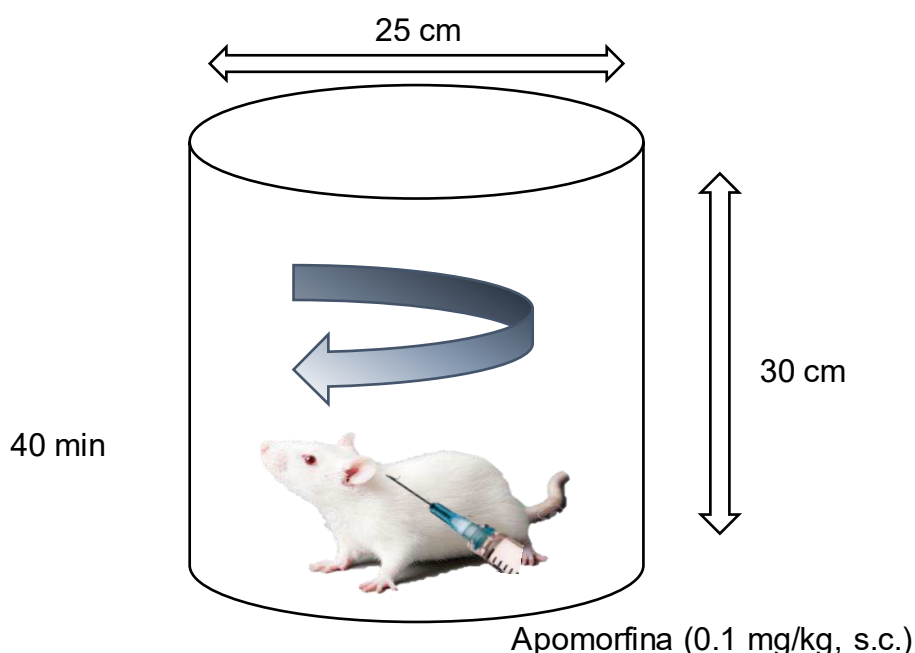


Figura 15. Esquema representativo de la prueba de conducta de giro inducido por apomorfina en la rata para la evaluación indirecta del daño dopaminérgico causado por la lesión con 6-OHDA en la SNC.

5.5. Plano inclinado

Para evaluar la conducta motora en las ratas se realizó la prueba de plano inclinado, la cual consistió en una tabla de madera de 25 cm de ancho por 2 m de largo, ajustado en sus extremos dos superficies planas y entre ellas formaron un ángulo de 15° separado del piso a 1 m de altura. La rata se colocó en el extremo inferior de la tabla y se cuantificó el tiempo de recorrido del plano a su extremo superior, se tomó un tiempo de corte 120 s (**Figura 16**). La prueba de plano inclinado se realizó por triplicado los días 0, 15 y 30 posteriores a la lesión dopaminérgica (Carter *et al.*, 2001).

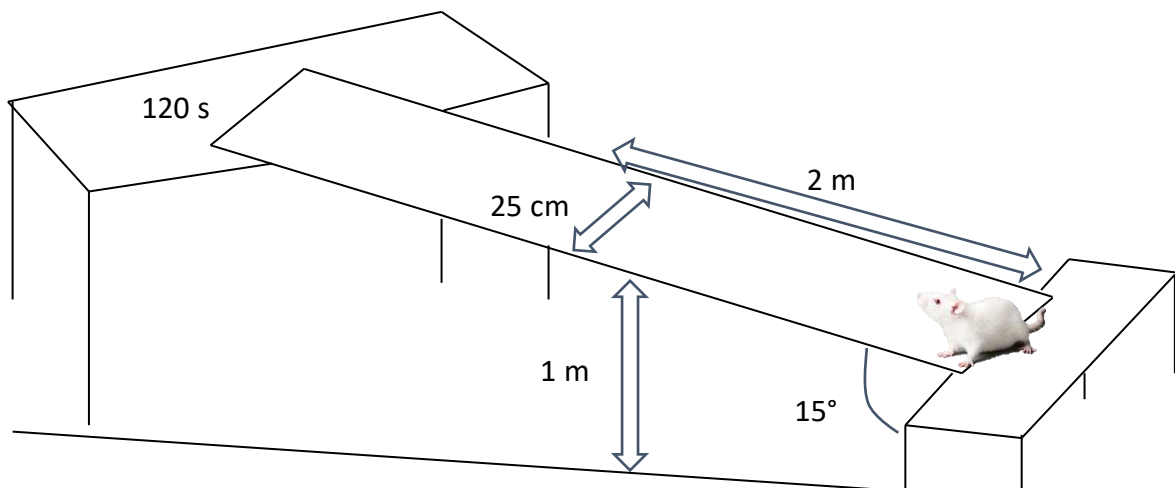


Figura 16. Esquema representativo de la prueba de plano inclinado de la rata para la evaluación de la conducta motora antes y posterior a la lesión con 6-OHDA en la SNC.

5.6. Viga de equilibrio

Otro ensayo realizado para evaluar la conducta motora en las ratas fue la prueba de la viga de equilibrio, la cual consistió de un tubo de madera de 100 cm de largo y 2.5 cm de diámetro ajustado en sus dos extremos a dos superficies planas formando una línea recta, evitando inclinaciones, separada del piso 80 cm. Se colocó una malla en la parte inferior de la viga para evitar que la rata se lesionara en caso de caerse. La rata se colocó en uno de los extremos de la viga y se cuantificó el tiempo en que tardaba en atravesar la viga hasta alcanzar el otro extremo de la superficie plana, teniendo como tiempo de corte 60 s (**Figura 17**). En caso de que los animales cayeran de la viga de equilibrio, se registró el tiempo de permanencia en la viga. En cada uno de los ensayos se cuantificó el tiempo promedio realizado por rata (Luong *et al.*, 2011).

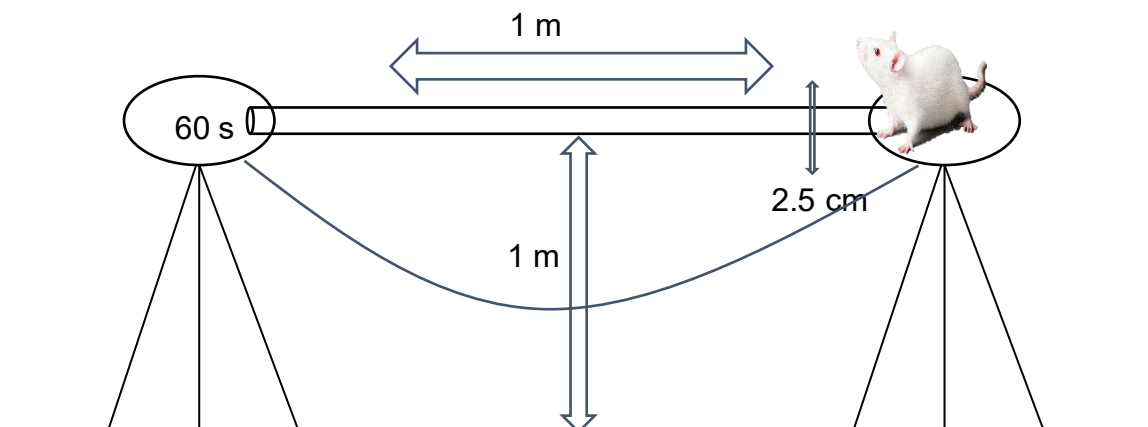


Figura 17. Esquema representativo de la prueba de la viga de equilibrio en la rata para la evaluación de la conducta motora antes y posterior a la lesión con 6-OHDA en la SNc.

5.7. Prueba del cilindro

La acinesia se evaluó con la prueba de cilindro que evalúa el uso independiente y simultáneo de las patas anteriores. Este ensayo es sensible a deficiencias de las patas anteriores a largo plazo que puedan ser enmascaradas por aprendizaje de otras pruebas motoras (Mendieta *et al.*, 2009; Schallert, 2006). Las ratas se colocaron en un cilindro transparente hueco de 30 cm de altura y 25 cm de diámetro, permitiendo el movimiento libre de la rata. La prueba de cilindro se realizó un día previo, 15 y 30 días posteriores a la lesión dopaminérgica. El uso de cada pata anterior se examinó con el número de contactos realizados a lo largo de las paredes del cilindro durante 5 min, usando las grabaciones de video en cámara lenta. Los contactos (círculo rojo en la **Figura 18**) se clasificaron en contactos ipsilaterales (IL), contralaterales (CL) o contactos de ambas patas anteriores (AB). Un mínimo de 8 contactos por prueba se cuantificó para considerarse un ensayo válido. El porcentaje del uso de las patas anteriores ipsilateral y contralateral relativas al número total de contactos realizados por cada animal fueron calculados con las siguientes fórmulas:

$$\text{Ec. 1) } \%IL = \frac{IL + \left(\frac{AB}{2}\right)}{IL + CL + AB} \times 100 \quad \text{Ec. 2) } \%CL = \frac{CL + \left(\frac{AB}{2}\right)}{IL + CL + AB} \times 100$$

$$\text{Ec. 3) } \%AB = \frac{AB}{IL + CL + AB} \times 100$$

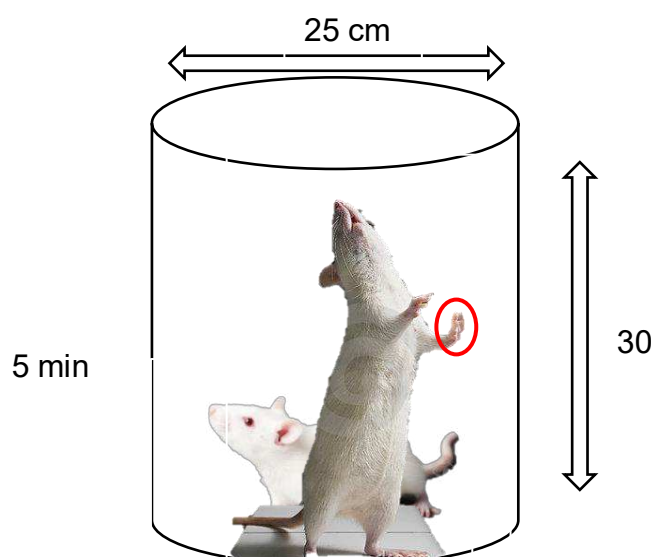


Figura 18. Esquema representativo de la prueba de cilindro en la rata para la evaluación de la conducta motora antes y posterior a la lesión con 6-OHDA en la SNC.

5.8. Campo abierto

El campo abierto es un área de acetato cuadrangular plana que mide 72 x 72 cm, específico para pruebas locomotoras en ratas, rodeado de paredes de 30 cm de altura para evitar que la rata escape. Se dividió el área en 17 cuadros de 18 x 18 cm, 16 de ellos en azul y uno más en el centro del área en rojo, éste último con el fin de identificar el área central del campo abierto. Dicho campo se limpió con alcohol etílico al 70% después de cada ensayo. Se cuantificó el número de cuadros recorridos por rata de cada grupo, así como el tiempo de congelamiento (tiempo en el que la rata estuvo en estado estacionario, sin movimiento, bradicinesia) y el trazo del trayecto recorrido en el campo abierto por grupo, durante 5 min, utilizando las grabaciones de video en cámara lenta (**Figura 19**). Los días en los que se evaluó la actividad motora de cada animal fue un día antes de la lesión dopaminérgica y a los 15 y 30 días posteriores a la lesión dopaminérgica. Los datos se expresaron como el promedio de cuadros recorridos por grupo \pm E.E. y como el promedio del tiempo de bradicinesia por grupo \pm E.E. (Singh *et al.*, 2017; Stanford y Brown, 2003; Walsh y Cummins, 1976).

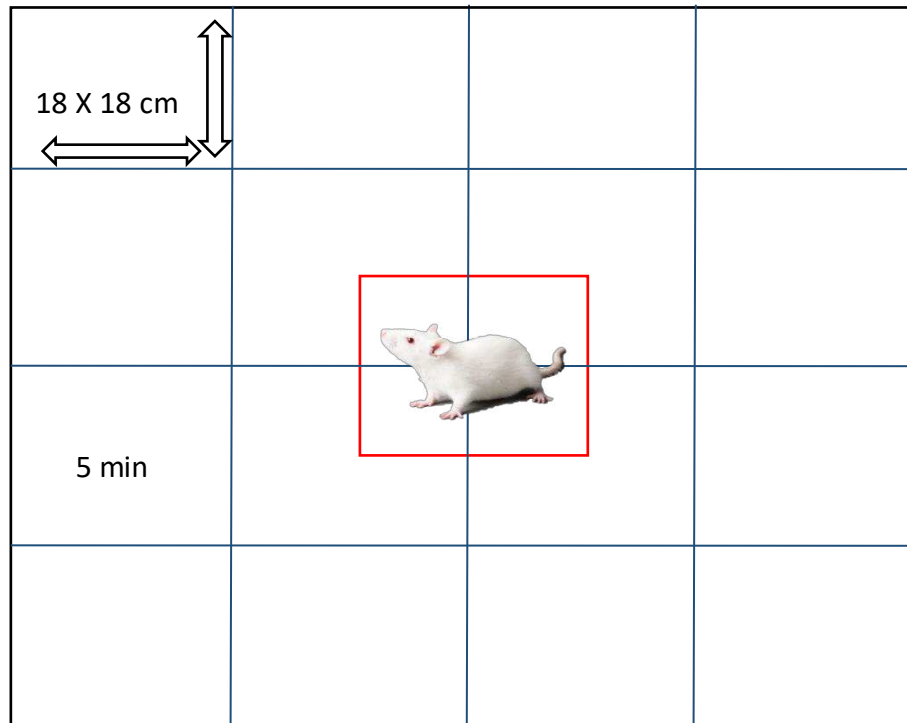


Figura 19. Esquema representativo de la prueba de campo abierto en la rata para la evaluación de la conducta motora antes y posterior a la lesión con 6-OHDA en la SNc.

5.9. Determinación del 50% del umbral de retiro de la pata (alodinia táctil)

Para la evaluación de las conductas nociceptiva (alodinia táctil) inducida por la lesión dopaminérgica se realizó mediante el método descrito por Chaplan y colaboradores en 1994 (Chaplan *et al.*, 1994). El 50% del umbral de retiro de la pata se determinó mediante el método de *up-down* descrito por Dixon (Dixon, 1965) y modificado por Chaplan (Chaplan *et al.*, 1994). Las pruebas de comportamiento se realizaron en grupos independientes de ratas (n=8). Las ratas se colocaron en cámaras de observación de acrílico transparente sobre una superficie de malla metálica 30 min antes de la evaluación de la alodinia táctil para permitirles adaptarse a su entorno (**Figura 20A**). De acuerdo al método de *up-down*, se aplicó un estímulo mecánico con ayuda de los filamentos de von Frey, la fuerza de estos filamentos comprende desde los 0.4 g hasta llegar a los 15 g. Este estímulo se aplicó durante 10 s en intervalos de 1 min sobre la superficie plantar de las extremidades posteriores (**Figura 20C**). Se comenzó el ensayo con un filamento de 2 g; cuando se produjo una respuesta positiva de retiro de la pata se marcó con una “x” y se procedió a disminuir de manera progresiva al filamento inmediatamente inferior. Por otra parte, cuando se obtuvo una respuesta negativa ante el estímulo mecánico se marcó con una “o” y se procedió a la aplicación de un filamento inmediatamente superior (**Figura 20B**). Para que una respuesta se tome como positiva tiene que ocurrir una retirada abrupta de la extremidad, cualquier otro comportamiento distinto al retiro de la pata se tomó como negativo. La prueba debe realizarse hasta que se registren seis respuestas iguales una vez y que se presenten al primer cambio de la respuesta conductual o hasta que se exceda el valor del filamento de gramaje más alto (15 g). Todos los datos obtenidos fueron transformados en valores numéricos mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$50\% \text{ Umbral del retiro de la pata} = \frac{10^{(Xf+k\delta)}}{10000}$$

Donde:

Xf: Valor en unidades logarítmicas del último filamento de von Frey utilizado.

k: Valor obtenido a partir de las tablas de Dixon (Dixon, 1965).

δ: Media de las diferencias entre los puntos Fuertes de estímulo en unidades logarítmicas.

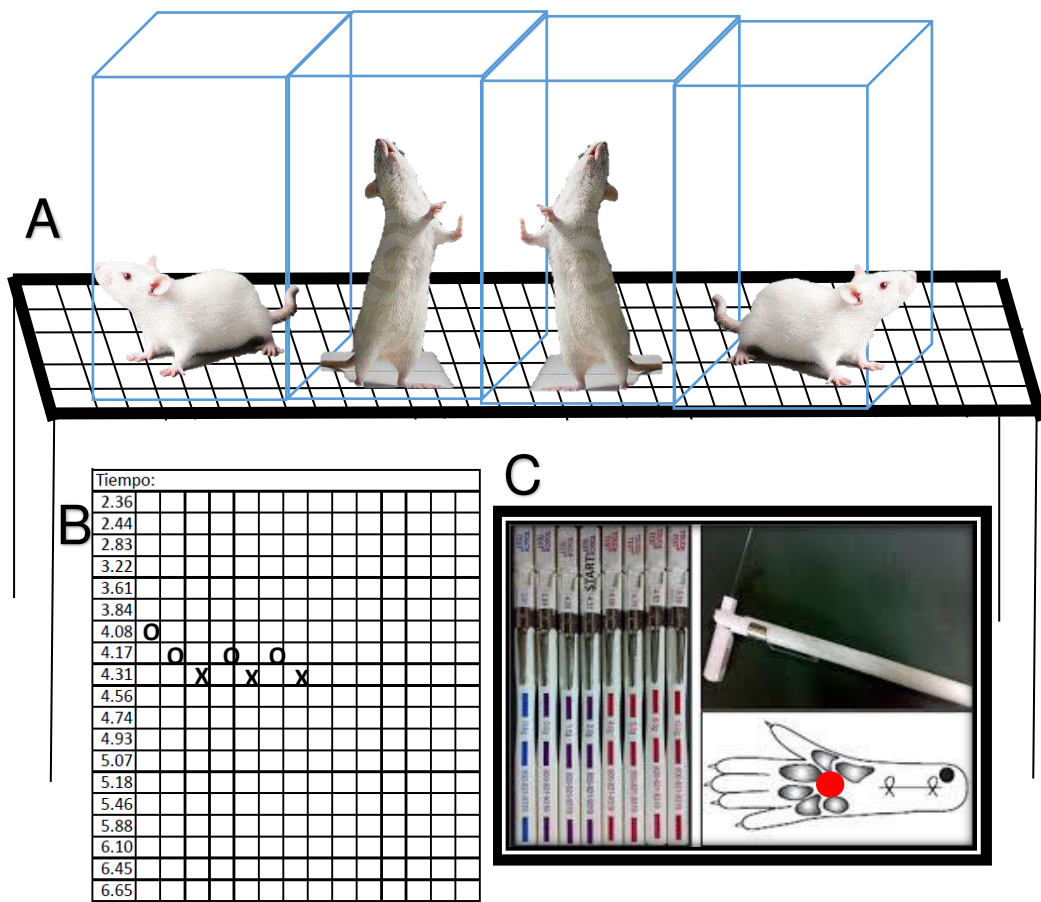


Figura 20. Esquema representativo de la evaluación de la alodinia táctil e hiperalgesia. **A** Representación del rack usado para la evaluación de alodinia táctil. **B** Hoja de registro del número de respuestas positivas “x” o número de respuestas negativas “o” durante el ensayo de alodinia táctil en una rata. **C** Imagen de los filamentos de von Frey, y señalado en un círculo rojo, el área de contacto de los estímulos mecánicas realizados con estos filamentos en las extremidades posteriores de las ratas.

5.11. Diseño experimental

Con el propósito de estandarizar la lesión con 6-OHDA en la SNc, las ratas fueron lesionadas con 6-OHDA de acuerdo a lo descrito por Dieb y Toktas (Dieb *et al.*, 2014, 2016; Zengin-Toktas *et al.*, 2013) realizando la lesión solo en un hemisferio (lesión unilateral).

Antes de la lesión las ratas fueron sometidas a las pruebas motoras de plano inclinado, viga de equilibrio, cilindro y campo abierto para determinar la habilidad motora basal. Asimismo, a las ratas se les evaluó la conducta nociceptiva por medio de las pruebas de alodinia táctil con los filamentos de von Frey. Posteriormente se realizó la lesión unilateral en la SNc (A.P.: -4.0, L.: +0.8 y D.V.: -8.0) administrando 6-OHDA a diferentes concentraciones (6.0, 10.0, 13.0 y 16.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$). Al grupo de las ratas vehículo (VEH) sólo se administró 0.02% ácido ascórbico más solución salina 0.9%. El día 12, posterior a la lesión, se realizó la prueba de conducta de giro, la cual permitió verificar de manera indirecta el grado de lesión generado por la administración de 6-OHDA. Sólo las ratas con un número de giros ≥ 300 se consideraron para realizar las mediciones tanto de conducta motora como los ensayos de nocicepción. En los días 15 y 30 días posteriores a la lesión con 6-OHDA se realizaron nuevamente las pruebas motoras (plano inclinado, viga de equilibrio, cilindro y campo abierto) con el fin de identificar el posible déficit motor inducido por la neurotoxina. En cada uno de los ensayos se cuantificó el tiempo de permanencia promedio realizado por rata.

Para medir la conducta nociceptiva posterior a la lesión se realizó el curso temporal de la alodinia táctil mediante el método de *up-down* cada tercer día, como lo reportó Chapan y colaboradores en 1994.

Con el propósito de determinar el posible efecto anti-alodínico del pramipexol (PPX) en ratas con la EP, 18 días después de la lesión dopaminérgica con 6-OHDA (16.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la SNc (alodinia instaurada) los animales recibieron dosis descendentes de PPX (3.0, 0.3 y 0.03 mg/kg, s.c.) y se evaluó la alodinia con el método *up-down* de manera aguda (0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 24 h) y crónica 1 vez al día/10 días (**Figura 21**).

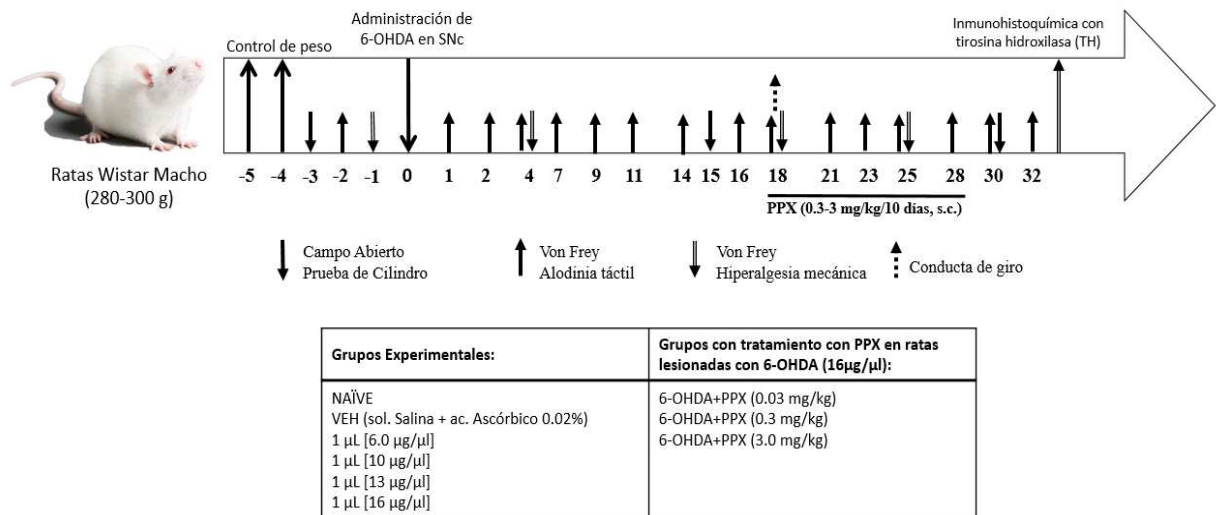


Figura 21. Diseño experimental de la lesión dopaminérgica con 6-OHDA en la SNc y la evaluación del posible efecto anti-alodínico del pramipexol en ratas con el modelo de la EP inducidas con 6-OHDA.

5.12. Análisis de datos y estadística

Todos los resultados experimentales se presentan como la media \pm del error estándar de los datos obtenidos de 8 animales por grupo.

Para la conducta de giro inducido por apomorfina se incluyeron sólo las ratas que tuvieron en promedio un número de giros ≥ 300 realizando posteriormente el análisis de varianza (ANOVA) de dos vías seguida de la prueba de Bonferroni para el curso temporal; y ANOVA de una vía seguida por una prueba de Tukey para el promedio de número de giros en cada grupo ($P \leq 0.05$) a lo largo del tiempo del ensayo.

Para las pruebas de plano inclinado y viga de equilibrio se construyeron gráficas de dispersión de puntos del tiempo recorrido o de permanencia, respectivamente, con respecto a cada grupo evaluado. Se realizó el análisis de ANOVA de una vía seguida de una prueba Dunnett ($P \leq 0.05$).

En la prueba de cilindro se construyeron las gráficas de barras del porcentaje del uso de las extremidades anteriores con respecto a las patas IL, CL o ambas para cada uno de los grupos el día previo, 15 y 30 días posteriores a la lesión dopaminérgica, donde el incremento del uso de la pata IL refleja la acinesia

inducida por la lesión dopaminérgica. Se realizó una ANOVA de dos vías seguida de una prueba de Bonferroni ($P \leq 0.05$).

En la prueba de campo abierto se construyeron las gráficas de barras del promedio del número de cuadros recorridos, bradicinesia y velocidad con respecto a cada grupo los días 0, 15 y 30 de la lesión dopaminérgica. Se realizó el análisis estadístico de ANOVA de una vía seguida por una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Las curvas de alodinia táctil fueron construidas a partir del umbral de retiro de la pata en función del tiempo. Un incremento en el umbral de retiro de la pata del 50% fue considerado como un efecto anti-alodínico. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de una o dos vías seguido de la prueba de Tukey o Bonferroni, respectivamente.

Cada uno de los grupos lesionados con 6-OHDA se comparó contra el grupo no-lesionado (VEH). Se consideró una diferencia estadística cuando se obtuvo un nivel de significancia $P \leq 0.05$.

6.0 RESULTADOS

6.1. Conducta de giro inducido por apomorfina

Las ratas con lesión unilateral con 6-OHDA (6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la SNc aumentaron el número de giros CL a los 14 días posteriores a la lesión (**Figura 22**). El grupo de 6 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ presentó un menor número de giros CL (0.623 ± 0.098 giros/min) comparado con los grupos de 10 (15.85 ± 1.50 giros/min), 13 (16.633 ± 0.43 giros/min) y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (19.24 ± 1.49 giros/min). La inyección de 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 6-OHDA aumentó el promedio de número de giros a partir del minuto 10 y mantuvo esta conducta por al menos 30 min (**Figura 22A**).

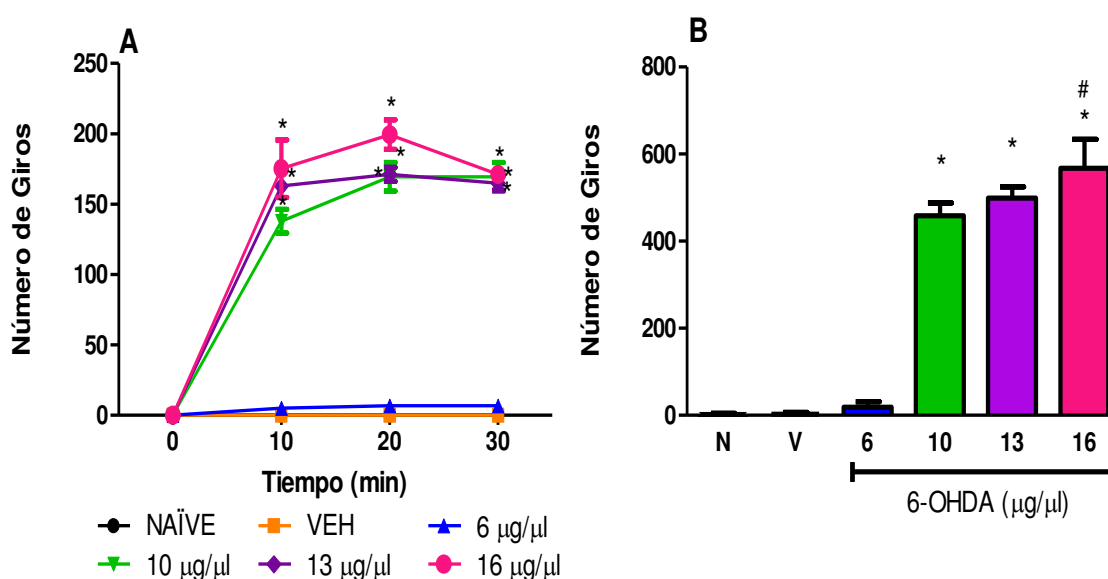


Figura 22. A. Curso temporal o B. Histograma del número de giros a lo largo de 30 min del ensayo inducidos por apomorfina, ejecutados por las ratas de los diferentes grupos: NAÏVE (N), VEH (V) y con la lesión unilateral con 6-OHDA a las dosis de 6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, respectivamente, posterior a la lesión (12 días). Los datos se expresan como la media \pm E.E. de 8 animales por grupo. * $P \leq 0.05$ contra el grupo VEH. # $P \leq 0.05$ contra los grupos de 10 y 13 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. A. ANOVA de dos vías seguida de la prueba de Bonferroni. B. ANOVA de una vía seguida por una prueba de Tukey contra el grupo VEH.

6.2. Plano inclinado

La lesión unilateral con 6-OHDA (6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la SNc incrementó significativamente el tiempo de recorrido en la prueba de plano inclinado comparado con los animales falsamente lesionados (VEH) y sin operar (NAÏVE) en la segunda y la cuarta semana posteriores a la lesión (**Figura 23**).

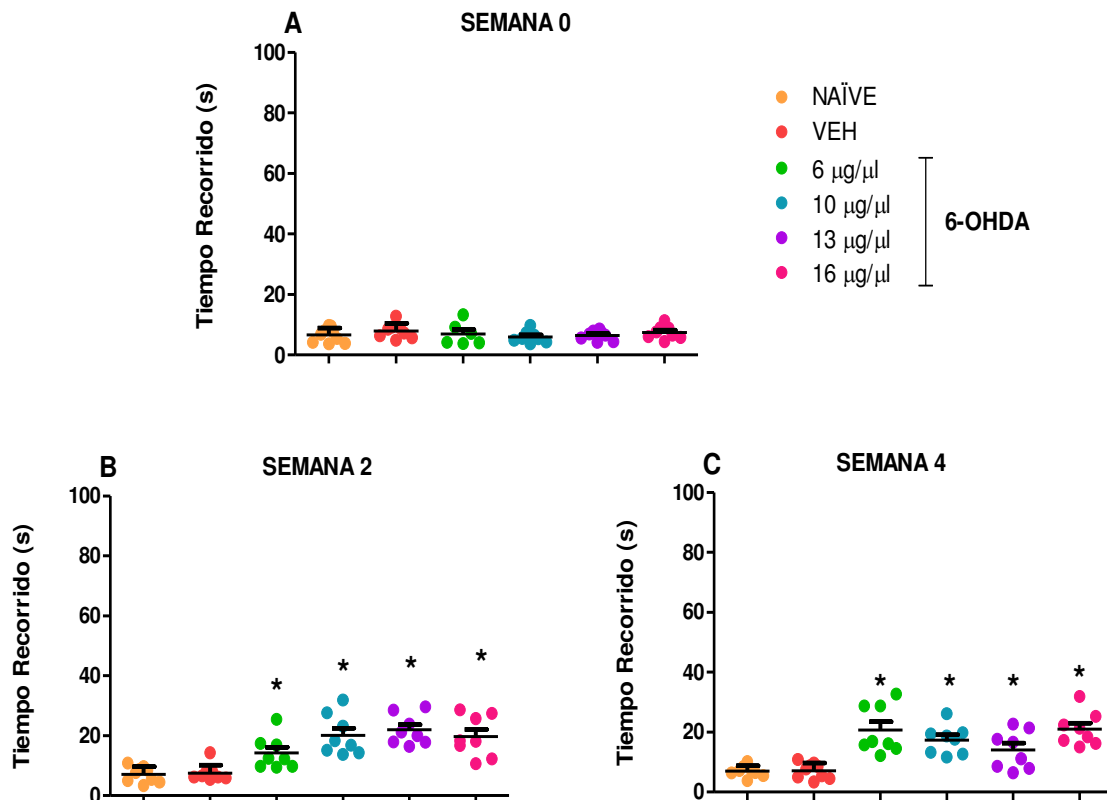


Figura 23. Gráficas de dispersión de puntos del Tiempo Recorrido (s) en ratas sin lesión (Naïve), falsamente operadas (Sham) y con lesión unilateral con 6-OHDA a las concentraciones de 6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ en la SNc a la semana previa a la lesión (semana 0); y en la segunda y la cuarta semana posteriores a la lesión (semana 2 y semana 4, respectivamente). Los datos se expresan como la media \pm E.E. de 8 animales por grupo. * $P \leq 0.05$ contra el grupo Naïve. ANOVA de una vía seguida por una prueba de Dunnett.

6.3. Viga de equilibrio

La lesión unilateral con 6-OHDA (6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la SNc disminuyó el tiempo de permanencia en la viga de equilibrio comparado con los animales falsamente lesionados (VEH) y sin operar (NAÏVE) en la segunda y cuarta semana posteriores a la lesión (**Figura 24**).

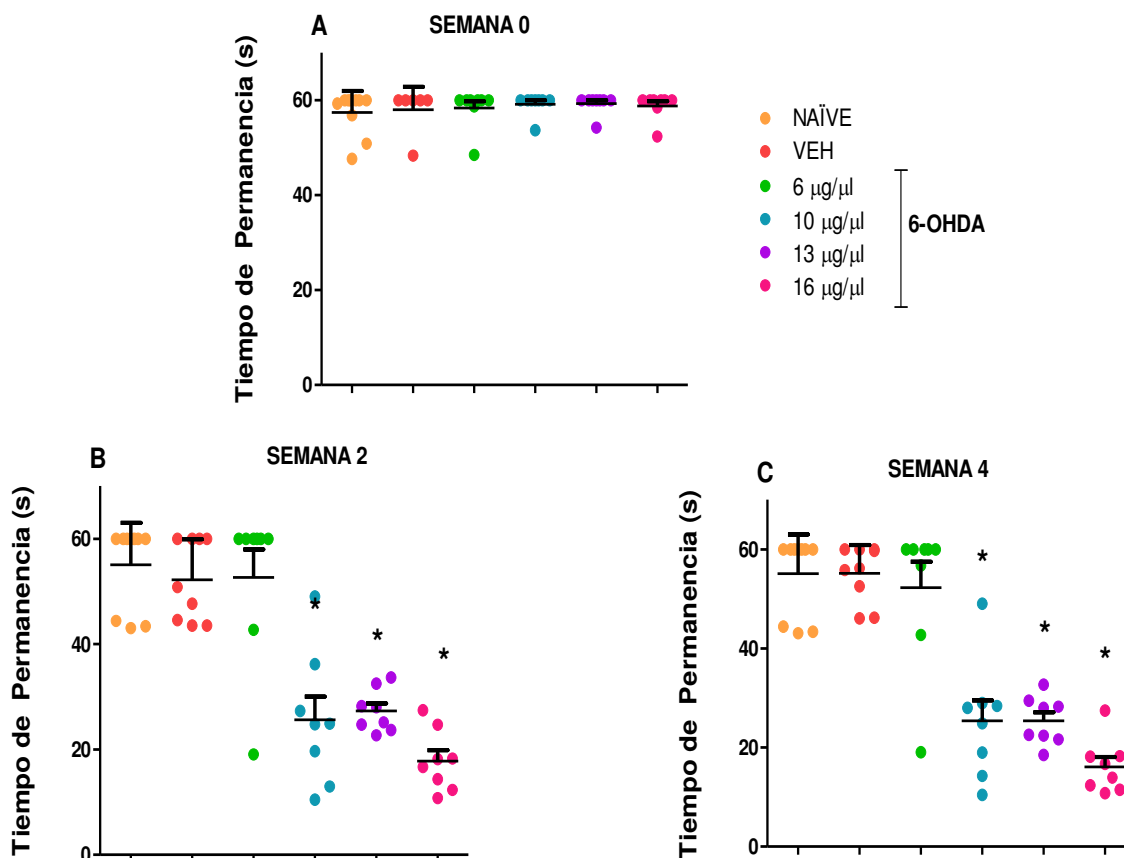


Figura 24. Gráficas de dispersión de puntos del Tiempo de Permanencia (s) en ratas sin lesión (Naïve), falsamente operadas (Sham) y con lesión unilateral con 6-OHDA a las concentraciones de 6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ en la SNc en la semana previa a la lesión (semana 0); y en la segunda y la cuarta semana posteriores a la lesión (semana 2 y semana 4, respectivamente). Los datos se expresan como la media \pm E.E. de 8 animales por grupo. * $P \leq 0.05$ contra el grupo Naïve. ANOVA de una vía seguida por una prueba de Dunnett.

6.4. Ensayo del cilindro

La lesión unilateral con 6-OHDA (6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la SNc generó una asimetría en el porcentaje de uso de ambas patas anteriores comparado con los animales falsamente lesionados (VEH) y sin operar (NAÏVE) a los 15 y 30 días posteriores a la lesión (**Figura 25B y C**). Es decir, el uso de la pata IL (la pata no dañada por la lesión) se usó en mayor predominancia con respecto a la pata CL y de ambas patas comparado con el uso indiscriminado de ambas patas antes de la lesión (**Figura 25A**).

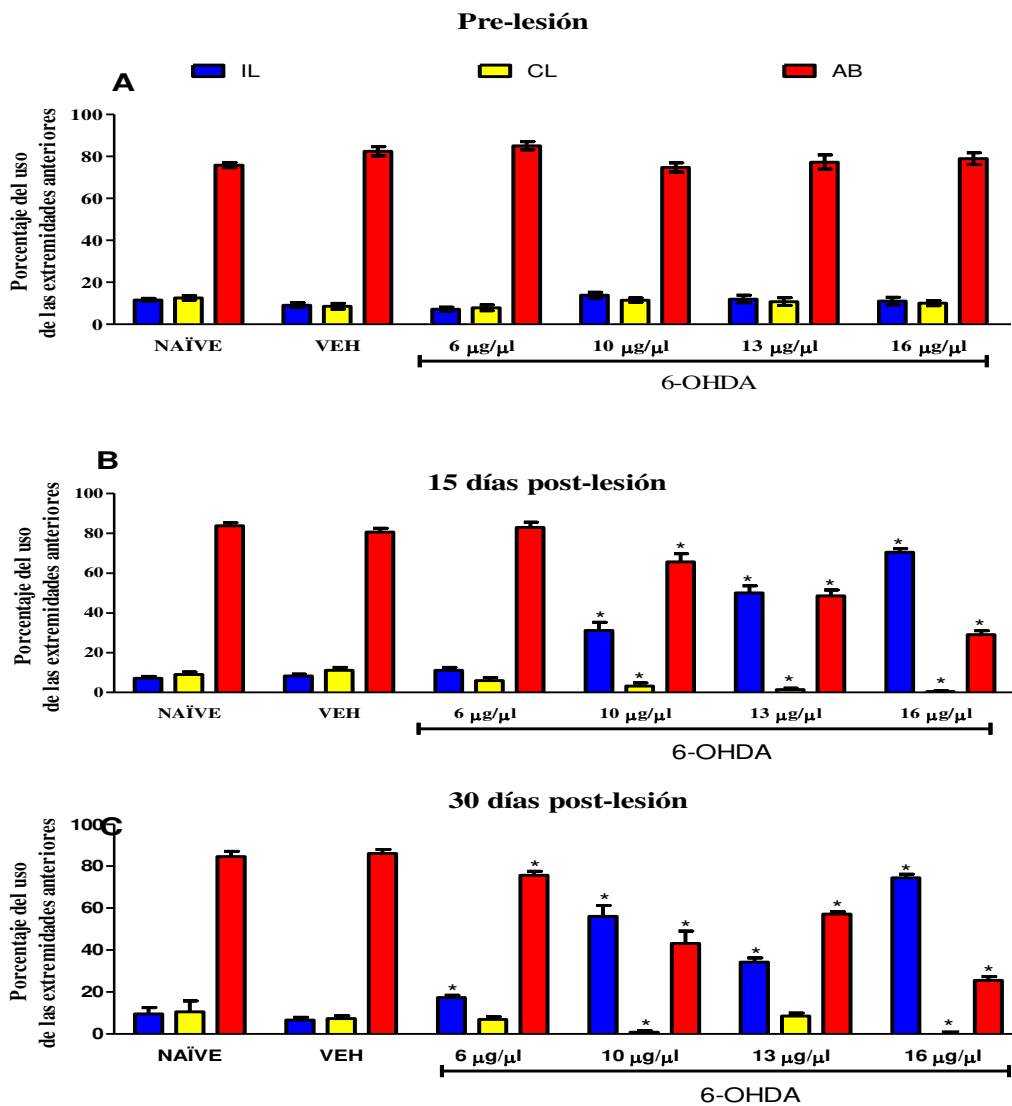


Figura 25. Porcentaje promedio del uso de las extremidades anteriores sobre la pared del cilindro ipsilateral (IL), contralateral (CL) y ambas patas (AB) en animales sin lesión (NAÏVE), administración de vehículo (VEH, ácido ascórbico 0.02% + solución salina) y animales con lesión (6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) con 6-OHDA. **A.** Antes de la lesión, **B.** 15 días y **C.** 30 días posteriores a la lesión. Los datos se expresan como la media \pm E.E. de 8 animales por grupo. *P \leq 0.05 contra el grupo VEH. ANOVA de dos vías seguida por una prueba Bonferroni.

6.5. Ensayo de campo abierto

La inyección con 6-OHDA 6 µg/µl (78.33), 10 µg/µl (42.11), 13 µg/µl (30.11) y 16 µg/µl (26.12) disminuyó el número de cuadros recorridos comparados con el grupo falsamente lesionado VEH (115.1) y sin lesionar NAÏVE (125.36) el día 15. Asimismo, los animales disminuyeron el número de cuadros recorridos el día 30 posterior a la lesión; 6.0 µg/µl (79), 10.0 µg/µl (63.33), 13.0 µg/µl (26) y 16.0 µg/µl (28.5) comparado con el grupo VEH (116.7) y el grupo NAÏVE (124.3), siendo similar al obtenido el día 15 (**Figura 26A**).

El tiempo de congelamiento, bradicinesia aumentó en los grupos lesionados con 6-OHDA en las dosis de 10.0 µg/µl (58.30 s), 13.0 µg/µl (110.58 s) y 16.0 µg/µl (164.40 s) con respecto al grupo vehículo VEH (12.25 s, $P \leq 0.05$) el día 15. De igual manera, el día 30, las dosis de 10.0 µg/µl (64.74 s), 13.0 µg/µl (73.15 s) y 16.0 µg/µl (177.9 s) aumentaron sus tiempos de congelamiento con respecto al grupo VEH (5.05 s), mostrando una recuperación motriz en la dosis de 13.0 µg/µl (**Figura 26B**). El día 15, la velocidad disminuyó significativamente en las dosis de 6.0 µg/µl (4.7 cm/s), 10.0 µg/µl (2.25 cm/s), 13.0 µg/µl (1.80 cm/s) y 16.0 µg/µl (1.56 cm/s) con respecto al grupo VEH (6.90 cm/s). En el día 30 se observó un ligero incremento de la velocidad en las dosis de 6.0 µg/µl (4.74 cm/s) y 10.0 µg/µl (3.8 cm/s), contrariamente sucedido en las dosis de 13.0 µg/µl (1.56 cm/s) y 16 µg/µl (1.71 cm/s) que redujeron todavía más su velocidad con respecto al día 15 y al grupo VEH (6.90 cm/s, $P \leq 0.05$) (**Figura 26C**).

Además, se observó el trazo del recorrido de cada uno de los grupos en el campo abierto de manera esquemática, para representar de manera visual la disminución del trayecto recorrido en ratas con la lesión dopaminérgica (6.0, 10.0, 13.0 y 16.0 µg/µl) comparado con el grupo VEH y sNAÏVE en el día 30 posterior a la lesión. Los grupos con lesión dopaminérgica disminuyeron gradualmente su recorrido de acuerdo a la dosis administrada (6.0, 10.0, 13.0 y 16.0 µg/µl), es decir, a mayor dosis menor trayecto realizado por el grupo; siendo la dosis más alta (16.0 µg/µl, 6-OHDA) la que mostró un menor trazo del recorrido de las ratas en el campo abierto (**Figura 27**).

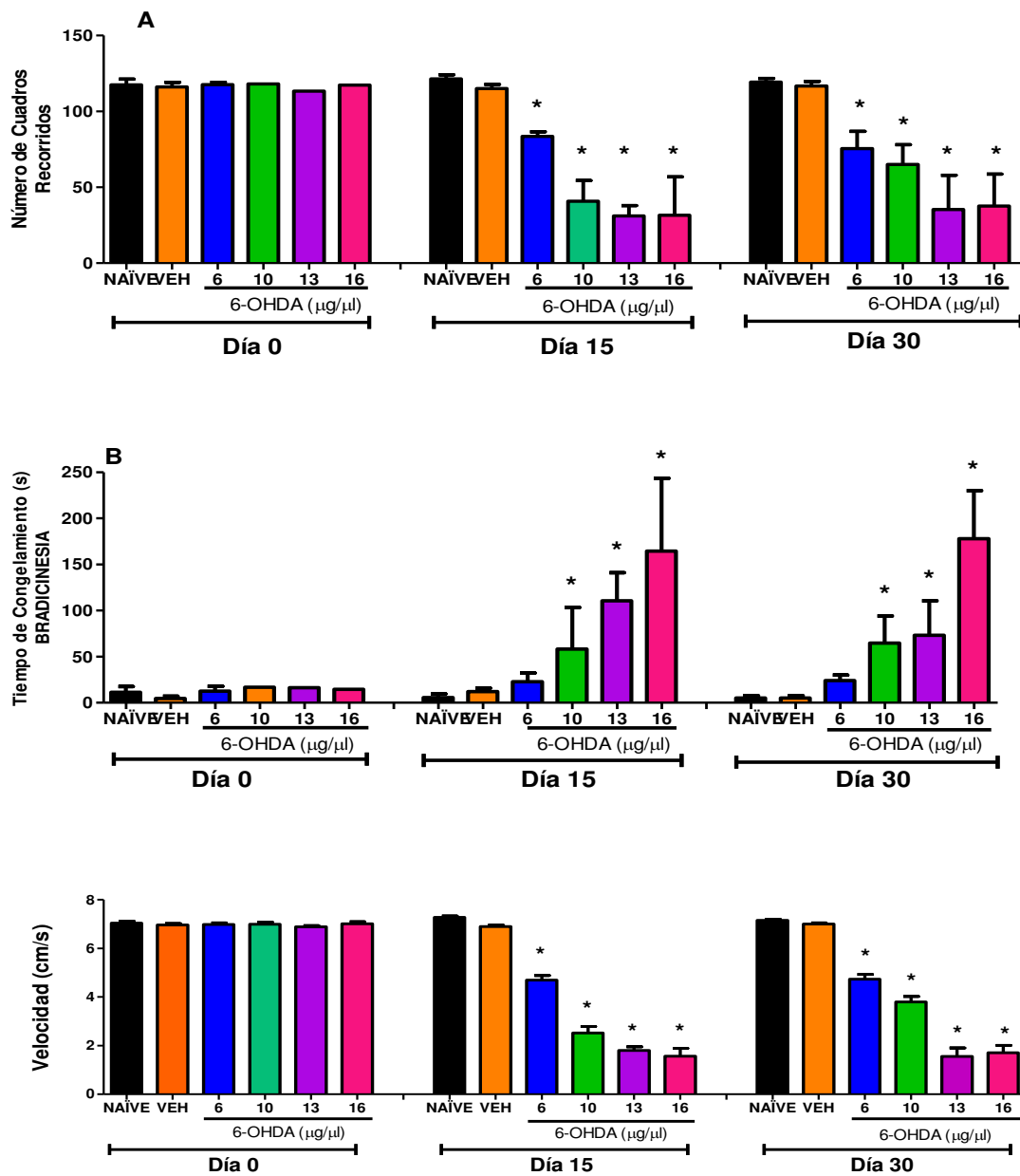


Figura 26. (A) Histograma del curso temporal del registro del número de cuadros recorridos en la prueba de campo abierto en los grupos Naïve, SHAM y con la lesión unilateral con 6-OHDA a las concentraciones de 6, 10, 13 y 16 µg/ µl, respectivamente, antes de la lesión (0 días) y posterior a la lesión (15 y 30 días). **(B)** Histograma del curso temporal del tiempo de congelamiento (bradicinesia) mostrado por las ratas NAÏVE, VEH y con la lesión unilateral con 6-OHDA a las concentraciones de 6.0, 10.0, 13.0 y 16.0 µg/ µl, respectivamente, antes de la lesión (0 días) y posterior a la lesión (15 y 30 días). Los datos se expresan como la media ± E.E. de 8 animales por grupo. *P ≤ 0.05 contra el grupo Naïve. ANOVA de una vía seguida por una prueba de Tukey contra el grupo Naïve.

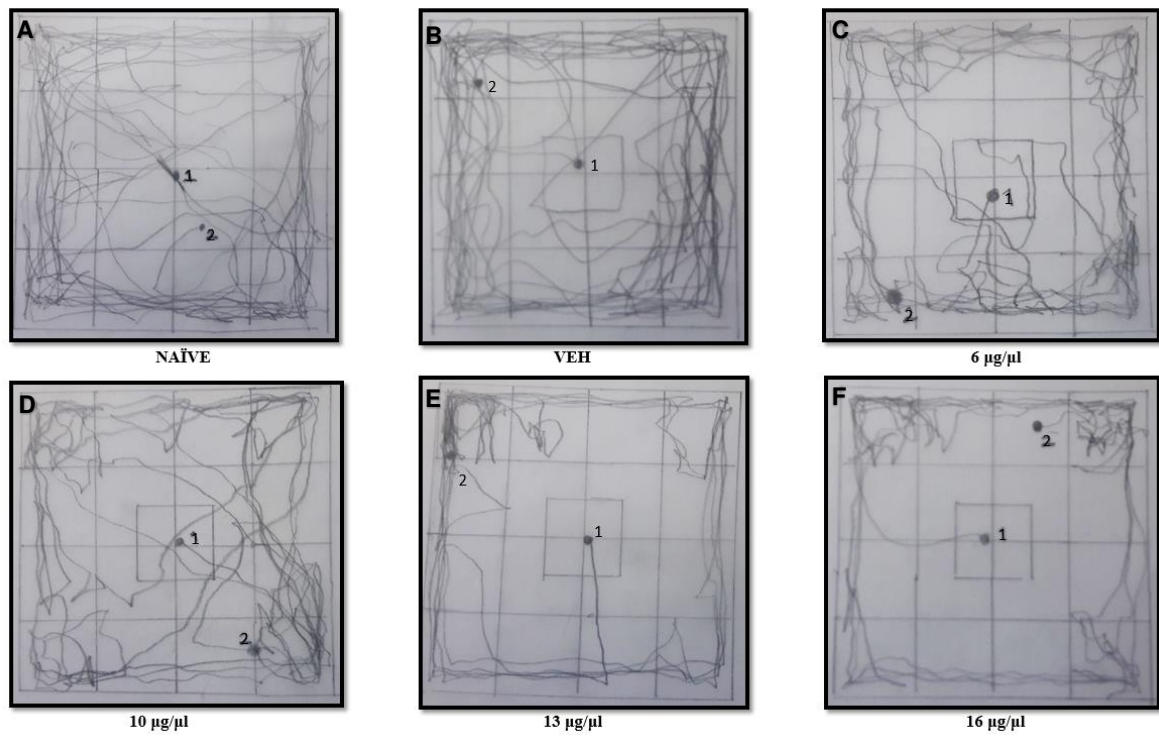


Figura 27. Planos del trayecto realizado por las ratas el día 30 posterior a la lesión con 6-OHDA. **A.** Grupo no lesionado (NAÍVE), **B.** Grupo falsamente lesionado (VEH), **C., D., E.** y **F.** Grupos con lesión en la vía nigroestriatal dopaminérgica (SNc) con 6-OHDA a diferentes dosis (6, 10, 13 and 16 µg/µl, respectivamente). 1 = punto de salida, 2 = punto de término.

6.6. Alodinia táctil

La lesión unilateral con 6-OHDA (6.0, 10.0, 13.0 y 16.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la SNc redujo significativamente el retiro de las patas tanto ipsilateral (IL) como contralateral (CL) de manera dosis-dependiente con respectiva comparación con el grupo Naïve y VEH a partir del día 16 y se mantuvo hasta el día 30 (**Figura 28**).

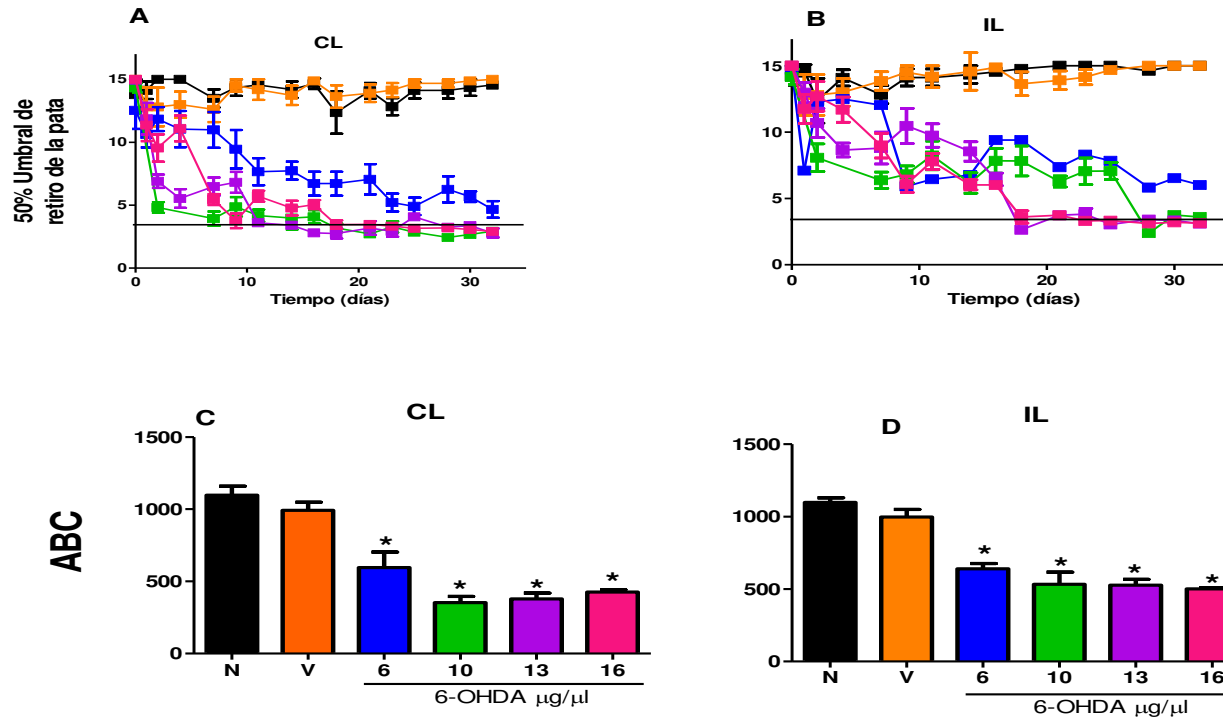
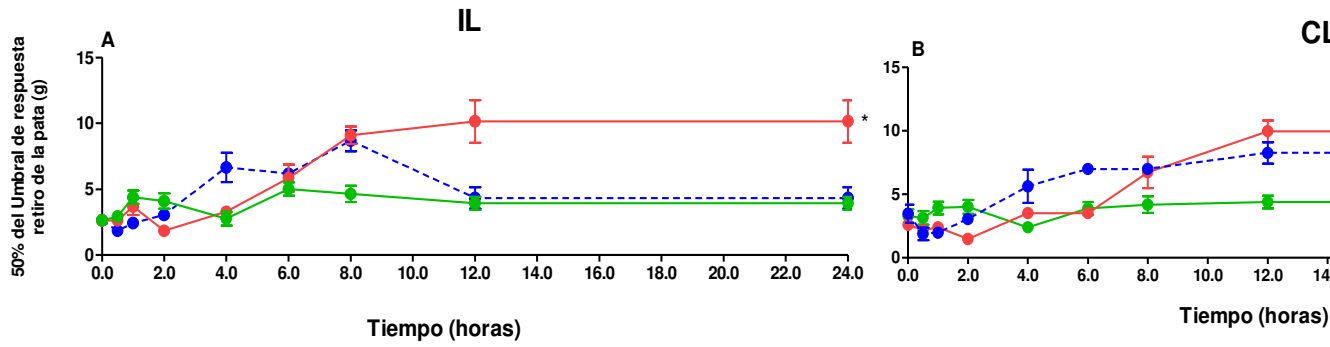


Figura 28. (A y B) Curso temporal del efecto antinociceptivo en ratas con la lesión unilateral con 6-OHDA en la SNc a diferentes dosis (6.0, 10.0, 13.0 y 16.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) comparados con las ratas Naïve y VEH. El umbral del retiro de la pata se evaluó un día antes de la lesión y a los días 1, 2, 4, 7, 10, 13, 16 y 30 posteriores a la lesión. (C y D) Histograma del Área Bajo la Curva (ABC) del 50% del umbral de retiro de la pata IL y CL, respectivamente, en función del umbral del retiro de las patas dependientes de la dosis de la neurotoxina. Los datos se expresan como la media \pm E.E. de 8 animales por grupo. ANOVA de una vía seguida por una prueba de Tukey contra el grupo Naïve.

6.7. Posible efecto anti-alodínico de PPX en ratas lesionadas con 6-OHDA

El tratamiento agudo con PPX incrementó el umbral de retiro de las patas IL y CL de manera dosis dependiente (0.3 y 3 mg/kg, s.c.) en ratas lesionadas unilateralmente con 6-OHDA (16 µg/µl) (**Figura 29A y B**). Como se muestra en el curso agudo 8 h después de la administración (0.3 y 3 mg/kg, PPX) los animales incrementaron el 50% del umbral del retiro de las patas tanto IL como CL en las ratas. La administración crónica con PPX (0.3 y 3 mg/kg, dosis diaria) aumentó el umbral de retiro de las patas a valores similares a los presentados por las ratas VEH (**Figura 29C y D**). En contraste, la dosis de 0.03 mg/kg no mostró un aumento significativo en el umbral de respuesta de retiro de las patas con respecto al grupo VEH.

Tratamiento agudo



Tratamiento crónico

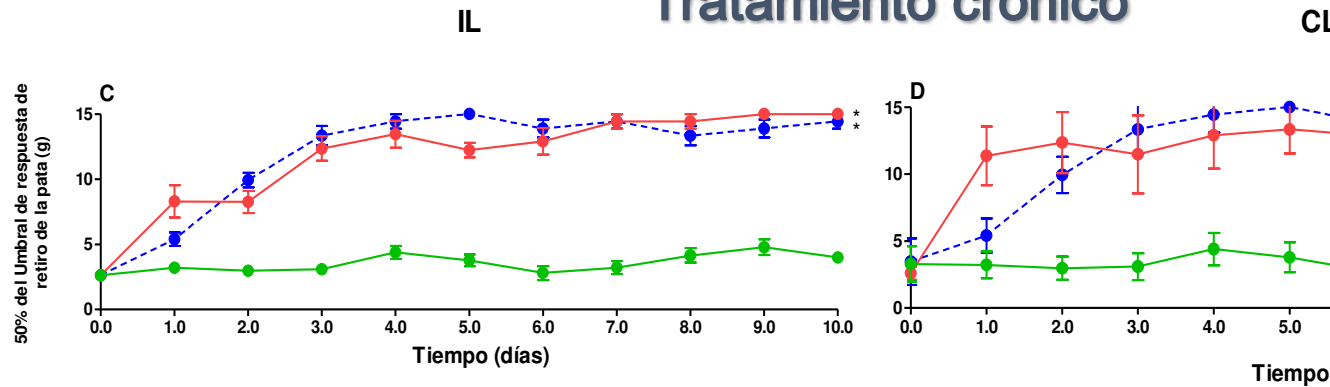


Figura 29. Curso temporal del 50% del umbral de respuesta de retiro de las patas ipsilateral (IL, **A** y **C**) y contralateral (CL, **B** y **D**) con PPX en ratas con lesión en la vía nigroestriatal dopaminérgica (SNc) con 6-OHDA. Los datos son de 8 animales por grupo. * $P \leq 0.05$ contra el grupo VEH. ANOVA de dos vías seguida de una prueba de Bonferroni.

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La lesión con 6-OHDA (6.0, 10.0, 13.0 y 16.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) generó déficit motor de manera dosis dependiente, así como conductas nociceptivas (alodinia táctil e hiperalgesia mecánica) de largo plazo en ambas patas (ipsilateral y contralateral).

7.1. Déficit motor

7.1.1 Conducta de giro

Con el propósito de demostrar que la administración de 6-OHDA en la SNc produce un déficit motor se realizó la prueba de conducta de giro inducido por apomorfina, los animales lesionados unilateralmente con 6-OHDA (6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) incrementaron el número de giros de manera dosis dependiente. La conducta de giro es consecuencia de la denervación IL ocasionada por la administración de 6-OHDA en la SNc, provocando reducción de la concentración de dopamina y sobreexpresión de receptores dopaminérgicos en esta región. La sobre-expresión de receptores dopaminérgicos en el sitio IL provoca una mayor sensibilidad a la dopamina y a los agonistas dopaminérgicos comparado con el sitio CL (Ungerstedt, 1971), promoviendo la conducta de giro rotacional CL. Esto permite determinar, de manera indirecta, el grado de lesión dopaminérgica existente. Es ampliamente conocido que la administración de apomorfina (0.05 mg/kg, s.c.) produce un número de giros ≥ 300 en una hora e induce una lesión dopaminérgica del 90% (Carman *et al.*, 1991). Por lo tanto, los grupos con lesión unilateral con 6-OHDA (10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en la SNc permitieron emular un modelo de la EP en rata debido al grado de lesión dopaminérgica determinado indirectamente por el número de giros inducidos con apomorfina. Sin embargo, estos datos deben ser correlacionados con la inmunoreactividad de neuronas positivas a tirosin hidroxilasa en la SNc.

La dosis de 16.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 6-OHDA en la SNc, en nuestro proyecto, generó un mayor número de giros con respecto a las otras dosis de 6.0, 10.0 y 13.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Este ensayo fundamenta la elección de la dosis de 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 6-OHDA para posteriores evaluaciones.

7.1.2. Plano inclinado y viga de equilibrio

Las deficiencias motoras inducidas con 6-OHDA en cada uno de los grupos fueron evaluadas con varias pruebas. En primera instancia se realizó la prueba de plano inclinado, la cual demuestra de manera representativa el tiempo en el que las ratas tardan en recorrer dicho plano. La administración unilateral con 6-OHDA en la SNc incrementó el tiempo de recorrido 6.0 µg/µl (6.70 s), 10 µg/µl (12.62 s), 13 µg/µl (14.44 s) y 16 µg/µl (12.25 s) de manera significativa con respecto al grupo VEH a los 15 días posteriores a la lesión. Cabe señalar que para el día 30, los grupos lesionados con 6-OHDA 6 µg/µl (13.57 s), 16 µg/µl (13.85 s) incrementaron el tiempo de permanencia en el plano inclinado con respecto al día 15, sugiriendo que los animales mantienen el déficit motor a lo largo del tiempo. Sin embargo, los grupos de ratas lesionadas con 6-OHDA 10 µg/µl (10.28 s), 13 µg/µl (6.94 s) presentaron una disminución en el tiempo de permanencia en el plano inclinado, sugiriendo una posible recuperación de su función motora. Estos datos empatan con lo señalado por Allbutt y Henderson en el 2007 y por Luong en el 2011, quienes sugieren que la prueba del plano inclinado denota fácilmente el déficit motor inducido por la administración de 6-OHDA en murinos (Allbutt y Henderson, 2007; Luong *et al.*, 2011).

De igual forma, en la prueba de la viga de equilibrio las ratas lesionadas con 6-OHDA 10 µg/µl, 13 µg/µl y 16 µg/µl manifestaron un menor tiempo de permanencia en la viga de equilibrio significativamente diferente ($P= 0.05$) comparado con los grupos VEH y NAÏVE los días 15 y 30 posteriores a la lesión. Estos datos sugieren fuertemente que la lesión dopaminérgica inducida con 6-OHDA provoca un déficit motor en los animales. El daño en la vía nigroestriatal, compuesta por el área de la SNc y el estriado, genera daño motor, siendo el estriado el responsable de la actividad motriz (Bernheimer *et al.*, 1973; Middleton y Strick, 2000). Al lesionar la SNc, la cual presenta proyecciones al estriado, daña de manera directa a esta última generando el déficit motor (DeLong y Wichmann, 2007).

7.1.3. Ensayo de cilindro

En el ensayo de cilindro podemos observar que antes de la lesión todos los grupos utilizan en mayor porcentaje de ambas patas de manera indiscriminada, con respecto al uso individual de las patas ipsilateral (IL) o contralateral (CL). 15 y 30 días posteriores a la lesión, los grupos con las dosis de 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 6-OHDA redujeron significativamente el uso de ambas patas y aumentaron el uso indiscriminado de la pata IL. Debido a la decusación existente en el cerebro se da este uso frecuente de la pata IL (Schallert and Tillerson, 2000). La dosis de 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ presentó una mayor reducción en el uso de ambas patas sin recuperación aparente como sucedió con las dosis de 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (9.45%) y 13 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (11.20%). Estudios anteriores reportan que la lesión dopaminérgica inducida con 6-OHDA cercana al 81-87% puede presentar recuperación en las pruebas motoras (Carman *et al.*, 1991). Sin embargo, cuando existe una pérdida neuronal del 90-98% no se presenta esta recuperación motora (Carman *et al.*, 1991; Schwarting y Huston, 1996). Posiblemente el daño dopaminérgico inducido por las dosis de 10 y 13 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 6-OHDA no es cercana al 90-98%, generando así una recuperación motora, la única manera de comprobar este porcentaje de daño es por medio de una inmunohistoquímica positiva a TH, con ello se podrá verificar el porcentaje real del daño dopaminérgico generado por la lesión con 6-OHDA a estas dosis.

7.1.4. Campo abierto

La prueba del campo abierto permite determinar el déficit motor y la bradicinesia en los animales (Walsh and Cummins, 1976). Las ratas lesionadas con 6-OHDA (6, 10, 13 y 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) disminuyeron su actividad motora, y presentaron bradicinesia, con respecto al grupo VEH y al grupo NAÏVE. El recorrido ambulatorio de las ratas lesionadas con 6-OHDA fue disminuyendo respecto a la dosis, así con 6 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 6-OHDA visitan el recorrido fue de 78.33 cuadros ($P=0.05$), con 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 6-OHDA visitan 42.11 cuadros, ($P=0.05$), con 13 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 6-OHDA visitan 30.11 cuadros ($P=0.05$) y finalmente con 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 6-OHDA visitan 26.12 cuadros ($P=0.05$). Este efecto indica que la 6-OHDA disminuyó significativamente la conducta motora con respecto al grupo VEH (115.1 cuadros, $P=0.05$) a los 15 y 30 días posterior a la lesión. Estos datos sugieren

que la administración de 6-OHDA en la SNc en rata provoca un déficit en la conducta durante la exploración en campo abierto.

La velocidad en el campo abierto en ratas con lesión dopaminérgica con las dosis de 6 µg/µl (4.7 cm/s), 10 µg/µl (2.52 cm/s), 13 µg/µl (1.80 cm/s) y 16 µg/µl (1.56 cm/s) disminuyeron significativamente con respecto al grupo VEH (6.90 cm/s) el día 15 y 30 posterior a la lesión. Asimismo, los animales con lesión dopaminérgica aumentaron el tiempo de congelamiento, emulando un mayor tiempo de bradicinesia con las dosis de 10 µg/µl (58.30 s), 13 µg/µl (110.58 s) y 16 µg/µl (164.40 s) con respecto al grupo VEH (12.25 s) los días 15 y 30 día posterior a la lesión. Cabe señalar que la dosis de 16 µg/µl presentó un mayor tiempo de bradicinesia, redujo hasta un 22.71% la velocidad de recorrido con respecto al grupo VEH. Además, este grupo disminuyó la velocidad de recorrido del campo abierto 35.23 veces más con respecto al grupo VEH, sugiriendo que la administración unilateral de 6-OHDA a una dosis de 16 µg/µl en la SNc genera un mayor daño motor debido a la lesión nigroestriatal. Estos datos corroboran lo que ha sido reportado anteriormente por el grupo de investigación de Christopher Lieu y colaboradores en el 2013, donde el daño en la vía nigroestriatal, reduce la conducta motora (Lieu et al., 2013). Así como las evidencias descritas por el grupo de Walsh y Cummins en 1976, donde el fenotipo motor expresado por la lesión dopaminérgica en ratas genera inhabilidad para realizar movimientos ambulatorios en el campo abierto, reduciendo su recorrido y aumentando la bradicinesia (Walsh and Cummins, 1976). También el grupo de Cools en 1990, a través de una lesión unilateral con 6-OHDA en el estriado dorsal generó un déficit motor en las ratas (Cools et al., 1990).

7.2. Hipersensibilidad al dolor

7.2.1. Alodinia táctil

Todos los ensayos anteriores nos permitieron identificar el déficit motor inducido por la administración de 6-OHDA y que permite emular los síntomas motores de la EP, pero nuestro interés radica en el estudio de los procesos de nocicepción implicados en este modelo de EP y así entender un poco más sobre este síntoma no-motor que aqueja a los pacientes. En un primer acercamiento, se determinó si la lesión dopaminérgica con 6-OHDA era capaz de desarrollar alodinia táctil en estos animales. La lesión unilateral de la SNc con 6-OHDA redujo significativamente el 50% del umbral del retiro de las patas tanto ipsilateral (IL) como contralateral (CL). Dado que la dosis de 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ provocó un déficit motor y tiempo de bradicinesia mayor en los animales y esto, a su vez, correlaciona con una mayor lesión dopaminérgica podría ser ésta la responsable de provocar una respuesta nociceptiva generalizada en ambas patas. Sin embargo, es necesario realizar las pruebas de inmunohistoquímica para confirmar la denervación de la vía nigroestriatal. Nuestros resultados muestran por primera vez que la lesión unilateral de la SNc con 6-OHDA es capaz de inducir el desarrollo de alodinia táctil. Nuestros datos concuerdan con reportes previos donde la lesión bilateral de la SNc con 6-OHDA promueve el desarrollo de alodinia táctil orofacial (Dieb et al., 2014; 2016). Sin embargo, resulta evidente que los resultados experimentales sugieren que la lesión unilateral dopaminérgica en la vía nigroestriatal inducida por la administración de 6-OHDA promueve el desarrollo de alodinia táctil difusa. Esto es, que no es necesario generar una lesión bilateral en la rata para provocar alodinia en ambas patas, sino que con sólo la administración unilateral es suficiente para desarrollar alodinia generalizada. Esto puede ayudar a emular el modelo de la EP evitando la muerte en ratas con lesión bilateral a causa del daño motor exacerbado.

Los datos anteriores sirvieron como base para elegir la dosis que permitiera emular el modelo de la EP y donde se mantuvieran las respuestas nociceptivas a lo largo de los ensayos (32 días) para cada uno de los grupos. Con base en esto, elegimos la dosis de 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ para realizar el ensayo del posible efecto anti-alodínico de PPX.

7.2.2. Efecto anti-alodínico de PPX

La administración sistémica de PPX a las dosis de 0.3 y 3 mg/kg en ratas con la EP inducidas con 6-OHDA (16 µg/µl) aumentó el 50% del umbral del retiro de las patas a partir del primer día de su administración y logrando llegar a valores de animales intactos a partir del cuarto día. La dosis más pequeña de PPX (0.03 mg/kg) no fue capaz de revertir la alodinia táctil inducida con 6-OHDA en las ratas. Cabe mencionar que la dosis más alta de PPX (3.0 mg/kg) generó efectos secundarios posterior a su administración, induciendo conducta de giro en las ratas.

Aunque el PPX es un fármaco de primera elección utilizado para el tratamiento de la EP, se conoce muy poco sobre su posible acción analgésica en pacientes y/o en modelos animales. Nosotros observamos que el tratamiento agudo con PPX incrementó el 50 % del umbral de retiro de las patas IL y CL de manera dosis dependiente en las ratas lesionadas unilateralmente con 6-OHDA (16 µg/µl) a partir de las 8 h. Asimismo, la administración crónica con PPX (0.3 y 3 mg/kg) aumentó el umbral de retiro de las patas a valores similares a los presentados por las ratas intactas, efecto que se mantuvo a lo largo del tratamiento (10 días). Cao y colaboradores (2016) demostraron que la administración de 6-OHDA en el estriado promueve el desarrollo de hipersensibilidad térmica y mecánica (4, 8 y 15 g) 4 semanas posteriores a la lesión dopaminérgica. En esas condiciones, la administración aguda de PPX (1 mg/kg, i.p.) en estos animales aumentó el umbral de latencia de retiro de la pata ante el estímulo térmico (1.5 h). Sin embargo, el PPX no mostró tener efecto ante estímulos mecánicos por un periodo de 6 h (Cao et al., 2016). La discrepancia con nuestros datos podría deberse a que ellos sólo midieron hasta las 6 h posteriores a la administración, mientras que nosotros observamos el efecto antialodínico a partir de la 8 h. Además, la vida media de eliminación del PPX varía entre 8 y 12 horas, por lo que un curso temporal inferior a este tiempo no permitiría observar el efecto deseado. Cabe destacar que esta es la primera ocasión que se demuestra que la administración sub-crónica de PPX presenta efectos antialodínicos. Los datos sugieren que este fármaco podría ser útil para el tratamiento de la alodinia desarrollada en pacientes con la EP.

En conjunto, este trabajo muestra por primera vez que la lesión de la SNc con 6-OHDA induce alodinia mecánica. Los resultados permiten inferir que la alodinia táctil en este modelo de la EP con 6-OHDA se establece a los 15 días posteriores a la lesión. Este fenómeno se acompaña del desarrollo del déficit motor característico de esta enfermedad.

8. CONCLUSIONES

1. La administración unilateral de 6-OHDA generó algunas de las características de la EP en la rata, como son las deficiencias motoras de bradicinesia, inestabilidad postural y asimetría del contacto de las patas anteriores.
2. La lesión unilateral dopaminérgica inducida por 6-OHDA produjo alodinia táctil bilateral.
3. El agonista dopaminérgico de los receptores D₂/D₃, PPX, revirtió la alodinia táctil inducida por 6-OHDA.
4. Los datos obtenidos sugieren que el tratamiento con PPX reduce la alodinia táctil en ratas con lesión dopaminérgica inducida por 6-OHDA, lo que permite sugerir al PPX como un fármaco con utilidad analgésica, y que posiblemente reduzca el dolor en pacientes con la EP.

9. PERSPECTIVAS

Conociendo el tiempo en el que tarda en establecerse la alodinia táctil y la hiperalgesia mecánica nos permitirá realizar otros estudios para poder identificar qué tipo de fármacos son los más eficaces para reducir o revertir el síntoma no-motor del dolor en pacientes con la EP.

Aunado a esto, se podrían caracterizar e identificar las vías por las cuales se está llevando a cabo este proceso de nocicepción, ya que no sólo la vía dopaminérgica está involucrada en la EP, sino que existe evidencia de que los sistemas glutamatérgico, GABAérgico, colinérgico, noradrenérgico, serotoninérgico, opioidérgico, histaminérgico y adenosinérgico participan. Estos sistemas se podrían abordar en estudios futuros.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Adler, L.J., Gyulai, F.E., Diehl, D.J., Mintun, M.A., Winter, P.M., Firestone, L.L., 1997. Regional brain activity changes associated with fentanyl analgesia elucidated by positron emission tomography. *Anesth. Analg.* 84, 120–126.
- Allbutt, H.N., Henderson, J.M., 2007. Use of the narrow beam test in the rat, 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *J. Neurosci. Methods* 159, 195–202.
- Almeida, T.F., Roizenblatt, S., Tufik, S., 2004. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res., Brain Research Volume 1000* 1000, 40–56.
- Alonso Cánovas, A., Luquin Piudo, R., García Ruiz-Espiga, P., Burguera, J.A., Campos Arillo, V., Castro, A., Linazasoro, G., López del Val, J., Vela, L., Martínez Castrillo, J.C., 2011. Agonistas dopaminérgicos en la enfermedad de Parkinson. *Neurología* 230–241. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2011.04.012>
- Anagnostakis, Y., Zis, V., Spyraiki, C., 1992. Analgesia induced by morphine injected into the pallidum. *Behav. Brain Res.* 48, 135–143.
- Angelova, P.R., Barilani, M., Lovejoy, C., Dossena, M., Viganò, M., Seresini, A., Piga, D., Gandhi, S., Pezzoli, G., Abramov, A.Y., Lazzari, L., 2018. Mitochondrial dysfunction in Parkinsonian mesenchymal stem cells impairs differentiation. *Redox Biol.* 14, 474–484.
- Aubert, I., Guigoni, C., Håkansson, K., Li, Q., Dovero, S., Barthe, N., Bioulac, B.H., Gross, C.E., Fisone, G., Bloch, B., Bezard, E., 2005. Increased D1 dopamine receptor signaling in levodopa-induced dyskinesia. *Ann. Neurol.* 57, 17–26. <https://doi.org/10.1002/ana.20296>
- Becerra, L., Breiter, H.C., Wise, R., Gonzalez, R.G., Borsook, D., 2001. Reward circuitry activation by noxious thermal stimuli. *Neuron* 32, 927–946.
- Beiske, A.G., Loge, J.H., Rønningen, A., Svensson, E., 2009. Pain in Parkinson's disease: Prevalence and characteristics. *Pain* 141, 173–177.
- Benabid, A.-L., Wallace, B., Mitrofanis, J., Xia, R., Piallat, B., Chabardes, S., Berger, F., 2005. A putative generalized model of the effects and mechanism of action of high frequency electrical stimulation of the central nervous system. *Acta Neurol. Belg.* 105, 149–157.
- Benito-León, J., 2018. Epidemiología de la enfermedad de Parkinson en España y su contextualización mundial: *Neurología.com* [WWW Document]. URL <http://www.neurologia.com/articulo/2017440> (accessed 2.28.18).
- Bergman, H., Wichmann, T., Karmon, B., DeLong, M.R., 1994. The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *J. Neurophysiol.* 72, 507–520. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.72.2.507>
- Bernheimer, H., Birkmayer, W., Hornykiewicz, O., Jellinger, K., Seitelberger, F., 1973. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations. *J. Neurol. Sci.* 20, 415–455.
- Betarbet, R., Porter, R.H., Greenamyre, J.T., 2000. GluR1 glutamate receptor subunit is regulated differentially in the primate basal ganglia following nigrostriatal dopamine denervation. *J. Neurochem.* 74, 1166–1174.

- Bingel, U., Gläscher, J., Weiller, C., Büchel, C., 2004. Somatotopic representation of nociceptive information in the putamen: an event-related fMRI study. *Cereb. Cortex N. Y. N* 14, 1340–1345.
- Blesa, J., Trigo-Damas, I., Quiroga-Varela, A., Jackson-Lewis, V.R., 2015. Oxidative stress and Parkinson's disease. *Front. Neuroanat.* 9.
- Boecker, H., Ceballos-Baumann, A., Bartenstein, P., Weindl, A., Siebner, H.R., Fassbender, T., Munz, F., Schwaiger, M., Conrad, B., 1999. Sensory processing in Parkinson's and Huntington's disease: investigations with 3D H(2)(15)O-PET. *Brain J. Neurol.* 122 (Pt 9), 1651–1665.
- Borsook, D., Becerra, L., Hargreaves, R., 2006. A role for fMRI in optimizing CNS drug development. *Nat. Rev. Drug Discov.* 5, 411–424.
- Borsook, D., Upadhyay, J., Chudler, E.H., Becerra, L., 2010. A key role of the basal ganglia in pain and analgesia - insights gained through human functional imaging. *Mol. Pain* 6, 27.
- Bové, J., Perier, C., 2012. Neurotoxin-based models of Parkinson's disease. *Neuroscience* 211, 51–76. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.10.057>
- Bové, J., Prou, D., Perier, C., Przedborski, S., 2005. Toxin-Induced Models of Parkinson's Disease. *NeuroRx* 2, 484–494.
- Breese, G.R., T aylor, T.D., 1970. EFFECT OF 6-HYDROXYDOPAMINE ON BRAIN NOREPINEPHRINE AND DOPAMINE: EVIDENCE FOR SELECTIVE DEGENERATION OF CATECHOLAMINE NEURONS. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 174, 413–420.
- Brefel-Courbon, C., Payoux, P., Thalamas, C., Ory, F., Quelven, I., Chollet, F., Montastruc, J.L., Rascol, O., 2005. Effect of levodopa on pain threshold in Parkinson's disease: a clinical and positron emission tomography study. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 20, 1557–1563.
- Breit, S., Bouali-Benazzouz, R., Popa, R.C., Gasser, T., Benabid, A.L., Benazzouz, A., 2007. Effects of 6-hydroxydopamine-induced severe or partial lesion of the nigrostriatal pathway on the neuronal activity of pallido-subthalamic network in the rat. *Exp. Neurol.* 205, 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.12.016>
- Broen, M.P.G., Braaksma, M.M., Patijn, J., Weber, W.E.J., 2012. Prevalence of pain in Parkinson's disease: A systematic review using the modified QUADAS tool. *Mov. Disord.* 27, 480–484.
- Brooks, D.J., 1997. Motor disturbance and brain functional imaging in Parkinson's disease. *Eur. Neurol.* 38 Suppl 2, 26–32. <https://doi.org/10.1159/000113473>
- Brown, M.T.C., Henny, P., Bolam, J.P., Magill, P.J., 2009. Activity of neurochemically heterogeneous dopaminergic neurons in the substantia nigra during spontaneous and driven changes in brain state. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 29, 2915–2925.
- Campbell, J.C., Jeyamohan, S.B., Cruz, P.D.L., Chen, N., Shin, D., Pilitsis, J.G., 2014. Place conditioning to apomorphine in rat models of Parkinson's disease: Differences by dose and side-effect expression. *Behav. Brain Res.* 275, 114–119.
- Cao, L.-F., Peng, X.-Y., Huang, Y., Wang, B., Zhou, F.-M., Cheng, R.-X., Chen, L.-H., Luo, W.-F., Liu, T., 2016. Restoring Spinal Noradrenergic Inhibitory Tone Attenuates Pain Hypersensitivity in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Neural Plast.* 2016.

- Carman, L.S., Gage, F.H., Shults, C.W., 1991. Partial lesion of the substantia nigra: relation between extent of lesion and rotational behavior. *Brain Res.* 553, 275–283.
- Carter, R.J., Morton, J., Dunnett, S.B., 2001. Motor Coordination and Balance in Rodents, in: *Current Protocols in Neuroscience*. John Wiley & Sons, Inc.
- Castañeda-Achutiguí, F., Tejeda-Martínez, A., Escalante-Castañeda, A., Sucre-Bernes, H.A., Monterrubio-Ledezma, E., García-Lemus, R., 2015. Modelos clásicos de inducción de Parkinsonismo - Universidad Veracruzana.
- Chaplan, S.R., Bach, F.W., Pogrel, J.W., Chung, J.M., Yaksh, T.L., 1994. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J. Neurosci. Methods* 53, 55–63.
- Charcot, J.M. (Jean M., Bourneville, b 1840, 1884. *Leçons sur les maladies du système nerveux faites à la salpêtrière*. Paris : A. Delahaye.
- Chudler, E.H., 1998. Response properties of neurons in the caudate-putamen and *globus pallidus* to noxious and non-noxious thermal stimulation in anesthetized rats. *Brain Res.* 812, 283–288.
- Chudler, E.H., Dong, W.K., 1995. The role of the basal ganglia in nociception and pain. *Pain* 60, 3–38.
- Chudler, E.H., Lu, Y., 2008. Nociceptive behavioral responses to chemical, thermal and mechanical stimulation after unilateral, intrastriatal administration of 6-hydroxydopamine. *Brain Res.* 1213, 41–47.
- Consejo de Salubridad General, 2008. Guía de Práctica Clínica. Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad de Parkinson Inicial en el primer nivel de atención. [WWW Document]. URL http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/153_GPC_PARKINSON/SSA_153_08_GRR_Parkinson.pdf (accessed 2.4.16).
- Conte, A., Khan, N., Defazio, G., Rothwell, J.C., Berardelli, A., 2013. Pathophysiology of somatosensory abnormalities in Parkinson disease. *Nat. Rev. Neurol.* 9, 687–697.
- Cools, A.R., Brachten, R., Heeren, D., Willemsen, A., Ellenbroek, B., 1990. Search after neurobiological profile of individual-specific features of Wistar rats. *Brain Res. Bull.* 24, 49–69.
- da Rocha, J.T., Pinton, S., Gai, B.M., Nogueira, C.W., 2013. Diphenyl diselenide reduces mechanical and thermal nociceptive behavioral responses after unilateral intrastriatal administration of 6-hydroxydopamine in rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 154, 372–378.
- Dauer, W., Przedborski, S., 2003. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. *Neuron* 39, 889–909.
- Davies, J.M.S., Cillard, J., Friguet, B., Cadenas, E., Cadet, J., Cayce, R., Fishmann, A., Liao, D., Bulbeau, A.-L., Derbré, F., Rébillard, A., Burstein, S., Hirsch, E., Klöner, R.A., Jakowec, M., Petzinger, G., Sauce, D., Sennlaub, F., Limon, I., Ursini, F., Maiorino, M., Economides, C., Pike, C.J., Cohen, P., Salvayre, A.N., Halliday, M.R., Lundquist, A.J., Jakowec, N.A., Mechta-Grigoriou, F., Mericskay, M., Mariani, J., Li, Z., Huang, D., Grant, E., Forman, H.J., Finch, C.E., Sun, P.Y., Pomatto, L.C.D., Agbulut, O., Warburton, D., Neri, C., Rouis, M., Cillard, P., Capeau, J., Rosenbaum, J., Davies, K.J.A., 2017. The Oxygen Paradox, the French Paradox, and age-related diseases. *GeroScience* 39, 499–550.

- DeLong, M.R., Wichmann, T., 2007. Circuits and circuit disorders of the basal ganglia. *Arch. Neurol.* 64, 20–24. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.1.20>
- Dias, V., Junn, E., Mouradian, M.M., 2013. The Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *J. Park. Dis.* 3, 461–491.
- Díaz, F.P., 2005. Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S.: Dolor iatrogénico. *ResearchGate* 28.
- Dieb, W., Ouachikh, O., Durif, F., Hafidi, A., 2016. Nigrostriatal dopaminergic depletion produces orofacial static mechanical allodynia. *Eur. J. Pain* 20, 196–205.
- Dieb, W., Ouachikh, O., Durif, F., Hafidi, A., 2014. Lesion of the dopaminergic nigrostriatal pathway induces trigeminal dynamic mechanical allodynia. *Brain Behav.* 4, 368–380.
- DiMascio, A., Bernardo, D.L., Greenblatt, D.J., Marder, J.E., 1976. A controlled trial of amantadine in drug-induced extrapyramidal disorders. *Arch. Gen. Psychiatry* 33, 599–602.
- Dixon, W.J., 1965. The Up-and-Down Method for Small Samples. *J. Am. Stat. Assoc.* 60, 967–978.
- Dopamine, 2018. . *Wikipedia*.
- Dunah, A.W., Wang, Y., Yasuda, R.P., Kameyama, K., Haganir, R.L., Wolfe, B.B., Standaert, D.G., 2000. Alterations in subunit expression, composition, and phosphorylation of striatal N-methyl-D-aspartate glutamate receptors in a rat 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Mol. Pharmacol.* 57, 342–352.
- Duty, S., Jenner, P., 2011. Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *Br. J. Pharmacol.* 164, 1357–1391. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01426.x>
- Eagle, D.M., Baunez, C., 2010. Is there an inhibitory-response-control system in the rat? Evidence from anatomical and pharmacological studies of behavioral inhibition. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 34, 50–72.
- Fernagut, P.O., Diguët, E., Bioulac, B., Tison, F., 2004. MPTP potentiates 3-nitropropionic acid-induced striatal damage in mice: reference to striatonigral degeneration. *Exp. Neurol.* 185, 47–62.
- Fil, A., Cano-de-la-Cuerda, R., Muñoz-Hellín, E., Vela, L., Ramiro-González, M., Fernández-de-las-Peñas, C., 2013. Pain in Parkinson disease: A review of the literature. *Parkinsonism Relat. Disord.* 19, 285–294.
- Ford, B., 2010a. Pain in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 25, S98–S103.
- Ford, B., 2010b. Pain in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 25, S98–S103.
- Galvan, A., Wichmann, T., 2008. Pathophysiology of Parkinsonism. *Clin. Neurophysiol. Off. J. Int. Fed. Clin. Neurophysiol.* 119, 1459–1474. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2008.03.017>
- Gatev, P., Darbin, O., Wichmann, T., 2006. Oscillations in the basal ganglia under normal conditions and in movement disorders. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 21, 1566–1577. <https://doi.org/10.1002/mds.21033>
- Gerdelat-Mas, A., Simonetta-Moreau, M., Thalamas, C., Ory-Magne, F., Slaoui, T., Rascol, O., Brefel-Courbon, C., 2007. Levodopa raises objective pain threshold in Parkinson's disease: a Rill reflex study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 78, 1140–1142.
- Gerfen, C.R., Engber, T.M., Mahan, L.C., Susel, Z., Chase, T.N., Monsma, F.J., Sibley, D.R., 1990. D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene

- expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 250, 1429–1432.
- Gierthmühlen, J., Arning, P., Binder, A., Herzog, J., Deuschl, G., Wasner, G., Baron, R., 2010. Influence of deep brain stimulation and levodopa on sensory signs in Parkinson's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 25, 1195–1202.
- Glinka, Y., Gassen, M., Youdim, M.B.H., 1997. Mechanism of 6-hydroxydopamine neurotoxicity, in: *Advances in Research on Neurodegeneration, Journal of Neural Transmission. Supplementa.* Springer, Vienna, pp. 55–66. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6842-4_7
- Golbe, L.I., Mark, M.H., Sage, J.I., 2010. *Parkinson's Disease Handbook, A Guide for Patients and Their Families.*
- Granovsky, Y., Schlesinger, I., Fadel, S., Erikh, I., Sprecher, E., Yarnitsky, D., 2013. Asymmetric pain processing in Parkinson's disease. *Eur. J. Neurol.* 20, 1375–1382.
- Guzmán, F., 2016. The Four Dopamine Pathways Relevant to Antipsychotics Pharmacology - Psychopharmacology Institute [WWW Document]. URL <http://psychopharmacologyinstitute.com/antipsychotics-videos/dopamine-pathways-antipsychotics-pharmacology/> (accessed 11.27.16).
- Hagelberg, N. a, Martikainen, I.K. b, Mansikka, H. a, Hinkka, S. c, Nagren, K. d, Hietala, J. d, Scheinin, H. d, Pertovaara, A. b, 2002. Dopamine D2 receptor binding in the human brain is associated with the response to painful stimulation and pain modulatory capacity. *Pain* 99, 273–279.
- Hald, A., Lotharius, J., 2005. Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: is there a causal link? *Exp. Neurol.* 193, 279–290.
- Hammond, C., Bergman, H., Brown, P., 2007. Pathological synchronization in Parkinson's disease: networks, models and treatments. *Trends Neurosci.* 30, 357–364. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.05.004>
- Haslinger, B., Erhard, P., Kämpfe, N., Boecker, H., Rummeny, E., Schwaiger, M., Conrad, B., Ceballos-Baumann, A.O., 2001. Event-related functional magnetic resonance imaging in Parkinson's disease before and after levodopa. *Brain J. Neurol.* 124, 558–570.
- Hu, J.Y., Jin, G.Z., 1999. Effect of tetrahydropalmatine analogs on Fos expression induced by formalin-pain. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 20, 193–200.
- Hwang, O., 2013. Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *Exp. Neurobiol.* 22, 11–17. <https://doi.org/10.5607/en.2013.22.1.11>
- Iancu, R., Mohapel, P., Brundin, P., Paul, G., 2005. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice. *Behav. Brain Res.* 162, 1–10.
- IASP, 2015. IASP Taxonomy - IASP [WWW Document]. IASP. URL <http://www.iasp-pain.org/Taxonomy?navItemNumber=576#Pain> (accessed 2.13.15).
- Jarcho, J.M., Mayer, E.A., Jiang, K., Feier, N., London, E.D., 2012. Pain, Affective Symptoms and Cognitive Deficits in Patients with Cerebral Dopamine Dysfunction. *Pain* 153.
- Jellinger, K.A., 1999. Post mortem studies in Parkinson's disease--is it possible to detect brain areas for specific symptoms? - PubMed - NCBI [WWW Document]. URL (accessed 2.2.18).

- Jellinger, K.A., 1991. Pathology of Parkinson's disease. Changes other than the nigrostriatal pathway. *Mol. Chem. Neuropathol.* 14, 153–197.
- Katz, J., Nielsen, K.M., Soghomonian, J.-J., 2005. Comparative effects of acute or chronic administration of levodopa to 6-hydroxydopamine-lesioned rats on the expression of glutamic acid decarboxylase in the neostriatum and GABAA receptors subunits in the substantia nigra, pars reticulata. *Neuroscience* 132, 833–842. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.12.032>
- Koyama, T., Kato, K., Mikami, A., 2000. During pain-avoidance neurons activated in the macaque anterior cingulate and caudate. *Neurosci. Lett.* 283, 17–20.
- Kvermmo, T., Houben, J., Sylte, I., 2008. Receptor-binding and pharmacokinetic properties of dopaminergic agonists. *Curr. Top. Med. Chem.* 8, 1049–1067.
- Langston, J.W., 2017. The MPTP Story. *J. Park. Dis.* 7, S11–S22.
- Lee, M.A., Walker, R.W., Hildreth, T.J., Prentice, W.M., 2006. A survey of pain in idiopathic Parkinson's disease. *J. Pain Symptom Manage.* 32, 462–469.
- Lees, A.J., 2008. Evidence-based efficacy comparison of tolcapone and entacapone as adjunctive therapy in Parkinson's disease. *CNS Neurosci. Ther.* 14, 83–93.
- Lieu, C.A., Chinta, S.J., Rane, A., Andersen, J.K., 2013. Age-Related Behavioral Phenotype of an Astrocytic Monoamine Oxidase-B Transgenic Mouse Model of Parkinson's Disease. *PLoS ONE* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054200>
- Litvinenko, I.V., Odinak, M.M., Mogil'naia, V.I., Sologub, O.S., Sakharovskaia, A.A., 2009. [Direct switch from conventional levodopa to stalevo (levodopa/carbidopa/entacapone) improves quality of life in Parkinson's disease: results of an open-label clinical study]. *Zh. Nevrol. Psikiatr. Im. S. S. Korsakova* 109, 51–54.
- Luong, T.N., Carlisle, H.J., Southwell, A., Patterson, P.H., 2011. Assessment of Motor Balance and Coordination in Mice using the Balance Beam. *JoVE J. Vis. Exp.* e2376–e2376.
- Maegawa, H., Morimoto, Y., Kudo, C., Hanamoto, H., Boku, A., Sugimura, M., Kato, T., Yoshida, A., Niwa, H., 2015. Neural mechanism underlying hyperalgesic response to orofacial pain in Parkinson's disease model rats. *Neurosci. Res.* 96, 59–68.
- Magnin, M., Morel, A., Jeanmonod, D., 2000. Single-unit analysis of the pallidum, thalamus and subthalamic nucleus in parkinsonian patients. *Neuroscience* 96, 549–564.
- Mallet, N., Ballion, B., Le Moine, C., Gonon, F., 2006. Cortical inputs and GABA interneurons imbalance projection neurons in the striatum of parkinsonian rats. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 26, 3875–3884. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4439-05.2006>
- Mendieta, L., Venegas, B., Moreno, N., Patricio, A., Martínez, I., Aguilera, J., Limón, I.D., 2009. The carboxyl-terminal domain of the heavy chain of tetanus toxin prevents dopaminergic degeneration and improves motor behavior in rats with striatal MPP⁺-lesions. *Neurosci. Res.* 65, 98–106.
- Middleton, F.A., Strick, P.L., 2000. Basal ganglia and cerebellar loops: motor and cognitive circuits. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 31, 236–250.

- Miller, W.C., DeLong, M.R., 1988. Parkinsonian symptomatology. An anatomical and physiological analysis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 515, 287–302.
- Nebe, A., Ebersbach, G., 2009. Pain intensity on and off levodopa in patients with Parkinson's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 24, 1233–1237.
- Paillé, V., Henry, V., Lescaudron, L., Brachet, P., Damier, P., 2007. Rat model of Parkinson's disease with bilateral motor abnormalities, reversible with levodopa, and dyskinesias. *Mov. Disord.* 22, 533–539.
- Park, D., 2017. Pramipexole-induced limb dystonia and its associated complex regional pain syndrome in idiopathic parkinson's disease. *Medicine* 96:28.
- Parkinson, J., 1817. *An Essay on the Shaking Palsy*. Whittingham and Rowland.
- Perrotta, A., Sandrini, G., Serrao, M., Buscone, S., Tassorelli, C., Tinazzi, M., Zangaglia, R., Pacchetti, C., Bartolo, M., Pierelli, F., Martignoni, E., 2011. Facilitated temporal summation of pain at spinal level in Parkinson's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 26, 442–448.
- Potvin, S., Grignon, S., Marchand, S., 2009. Human evidence of a supra-spinal modulating role of dopamine on pain perception. *Synapse* 63, 390–402.
- Roedter, A., Winkler, C., Samii, M., Walter, G.F., Brandis, A., Nikkhah, G., 2001. Comparison of unilateral and bilateral intrastriatal 6-hydroxydopamine-induced axon terminal lesions: Evidence for interhemispheric functional coupling of the two nigrostriatal pathways. *J. Comp. Neurol.* 432, 217–229.
- Sampaio, C., Ferreira, J.J., 2010. Parkinson disease: adjunctive entacapone therapy increases risk of dyskinesia. *Nat. Rev. Neurol.* 6, 590–591.
- Schallert, T., 2006. Behavioral tests for preclinical intervention assessment. *NeuroRx* 3, 497–504.
- Schallert, T., Tillerson, J.L., 2000. Intervention Strategies for Degeneration of Dopamine Neurons in Parkinsonism, in: *Central Nervous System Diseases, Contemporary Neuroscience*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 131–151. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-691-1_8
- Schwartz, R.K., Huston, J.P., 1996. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Prog. Neurobiol.* 50, 275–331.
- Scott, D.J., Heitzeg, M.M., Koeppe, R.A., Stohler, C.S., Zubieta, J.-K., 2006. Variations in the Human Pain Stress Experience Mediated by Ventral and Dorsal Basal Ganglia Dopamine Activity. *J. Neurosci.* 26, 10789–10795.
- Singh, S., Jamwal, S., Kumar, P., 2017. Neuroprotective potential of Quercetin in combination with piperine against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity. *Neural Regen. Res.* 12, 1137–1144.
- Sistema Nacional de Salud, 2010. GPC. Diagnóstico y tratamiento de la ENFERMEDAD DE PARKINSON. Inicial y avanzada en el tercer nivel de atención. [WWW Document]. URL http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/305_SSA_10_PARKINSON_3ER_NVL/EyR_Parkinson.pdf (accessed 8.28.17).
- Skogar, O., Lokk, J., 2016. Pain management in patients with Parkinson's disease: challenges and solutions. *J. Multidiscip. Healthc.* 9, 469–479.
- Slaoui, T., Mas-Gerdelat, A., Ory-Magne, F., Rascol, O., Brefel-Courbon, C., 2007. [Levodopa modifies pain thresholds in Parkinson's disease patients]. *Rev. Neurol. (Paris)* 163, 66–71.

- Snider, S.R., Fahn, S., Isgreen, W.P., Cote, L.J., 1976. Primary sensory symptoms in parkinsonism. *Neurology* 26, 423–429.
- Soares, J., Kliem, M.A., Betarbet, R., Greenamyre, J.T., Yamamoto, B., Wichmann, T., 2004. Role of external pallidal segment in primate parkinsonism: comparison of the effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinsonism and lesions of the external pallidal segment. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 24, 6417–6426. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0836-04.2004>
- Stancanello, J., Romanelli, P., Pantelis, E., Sebastiano, F., Modugno, N., 2009. Atlas-based functional radiosurgery: early results. *Med. Phys.* 36, 457–463.
- Stanford, L., Brown, R.E., 2003. MHC-congenic mice (C57BL/6J and B6-H-2K) show differences in speed but not accuracy in learning the Hebb-Williams Maze. *Behav. Brain Res.* 144, 187–197.
- Steiner, H., Morgan, S., Huston, J., 1985. Effect of forebrain commissurotomy on recovery from unilateral 6-OHDA lesions of the substantia nigra and circling induced by apomorphine. - PubMed - NCBI [WWW Document]. URL (accessed 1.25.18).
- Tassorelli, C., Armentero, M.-T., Greco, R., Fancellu, R., Sandrini, G., Nappi, G., Blandini, F., 2007. Behavioral responses and Fos activation following painful stimuli in a rodent model of Parkinson's disease. *Brain Res.* 1176, 53–61.
- Tinazzi, M., Del Vesco, C., Defazio, G., Fincati, E., Smania, N., Moretto, G., Fiaschi, A., Le Pera, D., Valeriani, M., 2008. Abnormal processing of the nociceptive input in Parkinson's disease: a study with CO2 laser evoked potentials. *Pain* 136, 117–124.
- Tinazzi, M., Del Vesco, C., Fincati, E., Ottaviani, S., Smania, N., Moretto, G., Fiaschi, A., Martino, D., Defazio, G., 2006. Pain and motor complications in Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 77, 822–825.
- Tinazzi, M., Recchia, S., Simonetto, S., Defazio, G., Tamburin, S., Moretto, G., Fiaschi, A., Miliucci, R., Valeriani, M., 2009. Hyperalgesia and laser evoked potentials alterations in hemiparkinson: evidence for an abnormal nociceptive processing. *J. Neurol. Sci.* 276, 153–158.
- Tinazzi, M., Recchia, S., Simonetto, S., Tamburin, S., Defazio, G., Fiaschi, A., Moretto, G., Valeriani, M., 2010. Muscular pain in Parkinson's disease and nociceptive processing assessed with CO2 laser-evoked potentials. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 25, 213–220.
- Toth, A., Nagy, H., Wacha, J., Bereczki, D., Takáts, A., 2015. [Application of levodopa/carbidopa intestinal gel in advanced Parkinson's disease]. *Neuropsychopharmacol. Hung. Magy. Pszichofarmakológiai Egyes. Lapja Off. J. Hung. Assoc. Psychopharmacol.* 17, 191–196.
- Ungerstedt, U., 1971. Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 367, 69–93.
- Ungerstedt, U., Arbuthnott, G.W., 1970. Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res.* 24, 485–493.
- Walsh, R.N., Cummins, R.A., 1976. The Open-Field Test: a critical review. *Psychol. Bull.* 83, 482–504.

- Weinberger, M., Mahant, N., Hutchison, W.D., Lozano, A.M., Moro, E., Hodaie, M., Lang, A.E., Dostrovsky, J.O., 2006. Beta oscillatory activity in the subthalamic nucleus and its relation to dopaminergic response in Parkinson's disease. *J. Neurophysiol.* 96, 3248–3256. <https://doi.org/10.1152/jn.00697.2006>
- Wertheimer, J., 2016. Pain - Parkinson's Disease Foundation (PDF) [WWW Document]. URL http://www.pdf.org/en/pain_pd (accessed 1.8.16).
- Wichmann, T., Soares, J., 2006. Neuronal firing before and after burst discharges in the monkey basal ganglia is predictably patterned in the normal state and altered in parkinsonism. *J. Neurophysiol.* 95, 2120–2133. <https://doi.org/10.1152/jn.01013.2005>
- Wood, P.B., 2008. Role of central dopamine in pain and analgesia. *Expert Rev. Neurother.* 8, 781–797.
- Woolf, C.J., 2010. What is this thing called pain? *J. Clin. Invest.* 120, 3742–3744.
- Yelnik, J., 2008. Modeling the organization of the basal ganglia. *Rev. Neurol. (Paris)* 164, 969–976.
- Zaja-Milatovic, S., Milatovic, D., Schantz, A.M., Zhang, J., Montine, K.S., Samii, A., Deutch, A.Y., Montine, T.J., 2005. Dendritic degeneration in neostriatal medium spiny neurons in Parkinson disease. *Neurology* 64, 545–547. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000150591.33787.A4>
- Zengin-Toktas, Y., Ferrier, J., Durif, F., Llorca, P.-M., Authier, N., 2013. Bilateral lesions of the nigrostriatal pathways are associated with chronic mechanical pain hypersensitivity in rats. *Neurosci. Res.* 76, 261–264.
- Zesiewicz, T.A., Sullivan, K.L., Arnulf, I., Chaudhuri, K.R., Morgan, J.C., Gronseth, G.S., Miyasaki, J., Iverson, D.J., Weiner, W.J., 2010. Practice Parameter: Treatment of nonmotor symptoms of Parkinson disease Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 74, 924–931.
- Zhou, C., Huang, Y., PRZEDBORSKI, S., 2008. Oxidative Stress in Parkinson's Disease: A Mechanism of Pathogenic and Therapeutic Significance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1147, 93–104.
- Zimmermann, M., 1983. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16, 109–110.