



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica
DCBS

“Participación de los receptores 5HT1A en el tálamo de ratas parkinsonianas sobre la modulación del dolor persistente”

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

**ACTIVIDADES RELACIONADAS CON LA
PROFESIÓN**

PERIODO 22 DE ABRIL DE 2024 – 22 DE OCTUBRE
DE 2024

**Instituto Nacional de Rehabilitación Luis
Guillermo Ibarra Ibarra**

Alumna: Ingrid Dariana Bonilla Susano
Matricula: 2192037060

Asesor Interno: Mtra. Leticia Ortega Almanza

Asesor externo: Dr. Alfonso Benito Alfaro Rodríguez

INTRODUCCIÓN

En el presente documento se reportan las actividades realizadas durante el servicio social llevado a cabo en el Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra (INR LGII), ubicado en Calz. México-Xochimilco 289, Coapa, Col. Arenal de Guadalupe, Tlalpan, 14389 Ciudad de México, en el periodo comprendido del 22 de abril al 22 de octubre de 2024.

El Instituto Nacional de Rehabilitación tiene como misión la prevención, diagnóstico, tratamiento y rehabilitación de la discapacidad, utilizando como herramientas la investigación científica, la formación de recursos humanos especializados y la atención médica de excelencia, todo ello con un fuerte enfoque humanístico. En este contexto, el Instituto se compromete a proporcionar servicios que mejoren la calidad de vida de las personas con discapacidad, apoyándose en un equipo multidisciplinario de profesionales altamente capacitados.

La visión del Instituto es consolidarse como una institución de prestigio, líder en investigación de vanguardia en materia de discapacidad. Su objetivo es formar recursos humanos que se conviertan en líderes en el ámbito de la salud, y posicionarse como un modelo de atención en problemas de salud discapacitantes, tanto a nivel nacional como internacional, alcanzando siempre los más altos estándares de calidad, eficiencia y humanismo. El Instituto busca proyectarse como un centro de referencia, reconocido por su investigación innovadora y su atención médica de alta calidad.

Durante mi servicio social, como egresado de la Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica, tuve la oportunidad de aplicar los conocimientos adquiridos en mi formación académica en un entorno real. Tuve la participación en el proyecto de investigación titulado *“Participación de los receptores 5HT_{1A} en el tálamo de ratas parkinsonianas sobre la modulación del dolor persistente”*, donde realicé diversas técnicas y actividades experimentales que me permitieron reforzar mis habilidades prácticas en el área de la salud.

Esta experiencia me permitió no solo aplicar los conocimientos teóricos adquiridos, sino también desarrollar nuevas competencias y habilidades que serán fundamentales para mi futuro profesional como Química Farmacéutica Bióloga.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este proyecto fue evaluar la expresión génica de receptores serotoninérgicos en el tálamo en ratas hemiparkinsonianas sometidas a un modelo de dolor persistente con formalina.

Como objetivos particulares se planteó:

- Evaluar la conducta dolorosa mediante la prueba de formalina en ratas hemiparkinsonianas.
- Evaluar la expresión génica del receptor 5-HT_{1A} por medio de PCR tiempo real.
- Cuantificar la expresión génica del receptor 5-HT_{1A} por medio de PCR tiempo real.

METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar “Rattus Norvergicus” con un peso promedio de 250 ± 15 gramos. Se alojarán en bioterio de tipo convencional en el Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra. Todos los animales fueron manejados con estricto apego en las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). Así mismo, las ratas fueron tratadas con base en lo estipulado en la guía “Care and Use of Experimental Animals” (Can Counc Anim Care).

Debido a la naturaleza del experimento se acataron en todo momento los lineamientos que se encuentran en la “Guidelines on Ethical Standards for Investigation of Experimental Pain in Animals”. Todos los procedimientos fueron sometidos a la aprobación del Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra.

Condiciones de alojamiento.

Los animales se mantuvieron en jaulas de polipropileno con sustrato de cama Aspen Shavings®, a una densidad poblacional de 0.66m² por animal, temperatura ambiental de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa promedio de $50 \pm 10\%$, ventilación de 20 recambios de aire/hora y con fotoperiodos de iluminación de 12 horas luz/12 horas de oscuridad. Se les suministrará agua y alimento balanceado en forma de pellets de la marca comercial Harlan Tekland Global Diets® con 18% de proteína cruda, 3.5% de grasa cruda y 13% de fibra cruda ad libitum.

Se utilizaron 30 ratas macho de la cepa Wistar “Rattus Norvergicus” con un peso de 250 ± 15 gramos, divididas en 5 grupos homogéneos de 6 ratas por grupo (n=6).

Grupos de estudio:

- Grupo 1: 6-OHDA + formalina (n=6): Se administraron 2 μL de 6-OHDA mediante la técnica de cirugía estereotáxica en la sustancia nigra pars compacta. El post-operatorio fue completado en el bioterio durante 20 días (en este periodo no se realizó ninguna prueba con las ratas) y se realizará pesaje constante por parte los investigadores. Al finalizar el periodo de recuperación, se realizó la prueba de apomorfina, administrando 0.5 mg/kg de apomorfina. Los animales que demostraron ser hemiparkinsonianos mediante la prueba de apomorfina fueron sometidos a la prueba de formalina e inmediatamente después se les llevó a punto final para la disección del Tálamo. Finalmente, El tálamo fue procesado y analizado mediante PCR en tiempo real.
- Grupo 2. SHAM + formalina (n=6): Se realizó la técnica de cirugía estereotáxica administrando 2 μL de vehículo de 6-OHDA (Ácido ascórbico) en la sustancia nigra pars compacta. El post-operatorio fue completado en el bioterio del INRLGII durante 20 días (en este periodo no se realizó ninguna prueba con las ratas) y se realizó pesaje constante por parte de los investigadores. Una vez finalizado el periodo de recuperación fueron sometidos a la prueba de formalina e inmediatamente después se les llevó a punto final para la disección del tálamo. Finalmente, el tálamo fue procesado y analizado mediante PCR en tiempo real.

- Grupo 3 (n=6): SHAM+Solución salina: Se realizó la técnica de cirugía estereotáxica administrando 2 μ L del vehículo de 6-OHDA (Ácido ascórbico) en la sustancia *nigra pars* compacta. El post-operatorio fue completado en el bioterio del INRLGII durante 20 días (en este periodo no se realizó ninguna prueba con las ratas) y se realizó pesaje constante por parte los investigadores. Una vez finalizado el periodo de recuperación se sometió a la administración de solución salina imitando la administración de formalina y se evaluó la conducta dolorosa, inmediatamente después se les llevó a punto final para la disección del tálamo. Finalmente, el tálamo fue procesado y analizado mediante PCR en tiempo real.
- Grupo 4. formalina (n=6): se realizó la prueba de formalina e inmediatamente después se les llevó a punto final al animal para la disección del tálamo. Finalmente, el tálamo fue procesado y analizado mediante PCR en tiempo real.
- Grupo 5. Solución salina (n=6): se administró solución salina para imitar la administración de formalina y se realizó la evaluación conductual, inmediatamente después se les llevó a punto final para la disección del tálamo. Finalmente, el tálamo fue procesado y analizado mediante PCR en tiempo real.

PROCEDIMIENTOS.

Al ingresar al Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, se les colocó una solución de Enroxil® 10% (1 mL/40 kg) en sus bebederos (vía oral) durante una semana.

CIRUGÍA ESTEREOTÁXICA

Las ratas fueron anestesiadas con ketamina 70 mg/kg (Ketamin-Pet® Aranda) y xilacina 15 mg/kg (Procin® PiSA), por vía intraperitoneal (i.p). Transcurridos 5 minutos después de la inyección se comprobó el grado de sensibilidad al comprimir el último tercio de la cola de la rata o puncionando los cojines plantares de las extremidades, hasta que la rata alcanza el plano de anestesia quirúrgica. Después se lavó y rasuró el área de incisión (hueso frontal al hueso occipital), las ratas fueron montadas al equipo estereotáxico (Stoeling Corp., Wood Dale, IL) donde la temperatura corporal fue monitoreada y regulada con el equipo para ratas CMA/150 (temperatura controller). Posteriormente se aplicó solución antiséptica de yodo en el área de incisión y ésta se realizó con una hoja de bisturí del No. 15, para obtener de un solo corte raneocaudal, una incisión en la piel de ~1.0 cm de longitud a nivel del hueso frontal al occipital y una vez expuesto el cráneo, se localizó la sutura intracraneal denominada bregma (punto 0). Se marcó un punto sobre el cráneo de acuerdo con coordenadas preestablecidas para el área de la sustancia nigra pars compacta del lado derecho del hemisferio del cerebro (Antero-posterior abregma (AP) = -5.0 mm; lateral (L) = -2.0 mm; y dorso ventral (DV) = -7.5 mm) según el atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (83). Después de marcar sobre el cráneo las coordenadas, se realizó un trépano de ~0.07 mm de diámetro con una pieza de mano eléctrica (OSADA, XL-30W), y se administraron 2 μ L de 6-OHDA con concentración de 8 μ g por μ L (6-Hydroxydopamine hydrochloride® Sigma-Aldrich) diluida en ácido ascórbico al 1% en agua Milli-Q, a flujo de 0.400 μ L x minuto, durante 5 minutos. Posteriormente, la incisión realizada se suturó con hilo no absorbible de nylon

monofilamento de calibre 2/0 con aguja cuerpo estriado longitudinal (SC-26) de 26 mm de 3/8 de círculo punta reverso cortante, y se limpió la sutura con yodo. Finalmente, se administró a las ratas 2 mg/kg de Meloxicam vía subcutánea (s.c). Todas las cirugías se llevaron a cabo de las 8 a.m. a las 12 p.m.

RECUPERACIÓN

Después de la intervención quirúrgica, las ratas se mantuvieron en vigilancia durante 6 horas, se les dejó comida dentro de la caja para que tengan fácil acceso y agua *ad libitum*. También se colocó una venda humedecida sobre los ojos con solución salina para evitar resequedad ocular.

Una vez finalizado el periodo de recuperación, las ratas se dejaron en reposo durante 20 días en el bioterio del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, con vigilancia constante de los investigadores. Los primeros 3 días posteriores a la cirugía, a las ratas se les administraron 2 mg/kg de Meloxicam vía s.c. cada 24 hrs.

PRUEBA DE APOMORFINA

En un redondel de plexiglás (20 x 24cm), con espejos colocados en la parte posterior y posicionados en un ángulo de 45° que permitan la visión completa de la actividad de la rata, se colocó un poco de aserrín de la caja habitual de la rata. Los animales pasaron por un proceso de aclimatación de 30 min antes de iniciar la prueba. Después, se administró apomorfina (0.5 mg/kg) subcutáneamente (s.c) en la región escapular con una jeringa mientras la rata es inmovilizada con un nivel de restricción moderado. Se esperará 5 minutos a que haga efecto y posteriormente se observará la conducta rotatoria de la rata se registró el número de veces que gira 360 grados, esto se realizó durante 40 minutos. Todos los registros se llevaron a cabo de las 9 a.m. a la 1 p.m. Se considerará a la rata Parkinsoniana al momento de cumplir con mínimo 100 giros en los 40 min. Ratas que no cumplieron con este requisito fueron excluidas del experimento.

PRUEBA DE FORMALINA

En este experimento las ratas fueron sometidas al modelo de dolor crónico, el cual consiste en la administración de 50 µL de formalina al 1% (s.c.) en la región dorsal de la extremidad posterior derecha. Los animales pasaron por un proceso de adaptación a la prueba de 40 min, el cual consiste en colocar a la rata en un redondel de observación de plexiglás (20 x 24cm) con espejos posicionados en un ángulo de 45° para permitir la observación completa. El día de la administración se utilizó una aguja calibre 26 G conectada a una jeringa de 1 mL. La formalina fue administrada rápidamente mientras la rata es inmovilizada con un nivel de restricción moderado. Posteriormente, la rata se colocó en el redondel de observación para observar el comportamiento relacionado con el dolor, el cual se cuantificó contando el número total de estremecimientos y sacudidas que ocurren durante periodos de 1 minuto con un intervalo de 5 minutos entre cada uno, hasta completar los 60 minutos. Todos los registros se llevaron a cabo a las 9:00 am del día.

DISECCIÓN

Inmediatamente después de la prueba de formalina, los animales fueron llevados a punto final mediante decapitación por guillotina, el procedimiento fue realizado por una sola persona capacitada en la técnica de decapitación. Después, se realizó la disección completa del cerebro de la bóveda craneal, con ayuda de alicatas para exponer el cerebro, y recuperar la estructura cerebral de interés: tálamo (ambos lados). Las estructuras serán colocadas en tubos eppendorf de 1 mL estériles (Eppendorf PhysioCare Concept®), los cuales serán colocados en congelación a -80°C. Los desechos biológicos serán tratados de acuerdo a la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-087-ECOL-SSA1-2002, PROTECCIÓN AMBIENTAL - SALUD AMBIENTAL - RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICOINFECCIOSOS - CLASIFICACIÓN Y ESPECIFICACIONES DE MANEJO.

EXTRACCIÓN DE ARN CON TRIzol

El ARN total se obtuvo por separado del tálamo (ambos lados) agregando en cada una 1.0mL de TRIzol, se homogenizó con una micropipeta, se dejará reposar el homogenizado por 5 min a temperatura ambiente, y después se agregaron 100 µL (0.1 mL) de cloroformo por cada mL de TRIzol para después agitarse en el vortex por 15 segundos. Se dejó reposar 10 min y se centrifugaron las muestras a 13,000g por 15 minutos a 4°C. Se recuperó la fase acuosa en un tubo Eppendorf de 1.5 mL, y se desechó la fase orgánica. A la fase recuperada se agregarán 500 µL de isopropanol (0.5 mL) frío, por cada mL de TRIzol y se dejara reposar toda la noche a -20°C.

Al día siguiente se centrifugaron a 14,000g por 10 minutos a 4°C, y se decantó el sobrenadante para lavar la pastilla con 1 mL de etanol al 75%, posteriormente, se centrifugó a 14,000g por 5min a 4°C y se decantó el sobrenadante (este lavado se repetirá de dos a tres veces). Se dejó secar el residual de etanol a temperatura ambiente, dentro de la campana de flujo laminar. Se disolvió la pastilla de RNA en Agua DEPC o en EDTA 1mM a un pH de 7.0. Después del proceso anterior, las muestras se cuantificaron con NanoDrop, y finalmente se guardaron a -80°C.

RT-PCR

La retrotranscripción de RNA a cDNA se realizará con el equipo Veriti™ Dx 96-well Fast Thermal Cyclor (Applied Biosystems™) con una mezcla por muestra de 1 µg de RNA del tejido 10.4 µL de Master de reactivos de transcripción inversa TaqMan™ (N8080234) y finalmente agua DEPC µL a 37° C x 30 min.

El PCR en tiempo real se realizará usando el equipo QIAGEN® Rotor-Gene® Q. Se colocarán 20 µL por muestra en el equipo para la detección del receptor 5-HT_{1A}, las cuales consistirán en 10 µL RT2 SYBR Green qPCR Mastermix Kit (Quiagen), 3 µL del primer 5-HT_{1A} forward, 3 µL del primer 5-HT_{1A} reverse, 3 µL de H₂O y por último 1 µL de cDNA.

Las condiciones del equipo serán las siguientes: activación a 95°C durante 10 min; desnaturalización a 95°C durante 15 seg; alineación a 61°C durante 47 seg. por ciclo con un total de 40 ciclos

ACTIVIDADES REALIZADAS

Al participar en una parte del proyecto “Participación de los receptores 5-HT1A en el tálamo de ratas parkinsonianas sobre la modulación del dolor persistente”, se llevaron a cabo las siguientes actividades:

- Se brindó apoyo en la cirugía estereotáxica, en la cual se administró 6-OHDA a las ratas para inducir un modelo de hemiparkinsonismo. Como QFB, esto permitió familiarizarme con un modelo animal que facilita el análisis de distintas enfermedades neurodegenerativas.
- Se realizaron las pruebas de apomorfina y formalina para estudiar el dolor en las ratas. Durante estas pruebas, se observó y analizó la estructura química, las propiedades fisicoquímicas y el comportamiento farmacológico de ambos fármacos.
- Se realizó la extracción de tejido mediante la técnica de TRIzol para obtener ARN, que posteriormente se convirtió en cDNA por medio de RT-qPCR. Esto permitió evaluar y cuantificar la expresión génica de los receptores 5-HT1A, complementando el proceso con una electroforesis. Estas actividades refuerzan habilidades en técnicas moleculares importantes que permiten detectar y analizar moléculas de ADN, ARN, y proteínas al igual que la integridad de las muestras.
- Se llevó a cabo un cultivo celular primario de ratas adultas hemiparkinsonianas, obteniendo muestras de estructuras como la corteza, el tálamo, el hipotálamo y el estriado, con el objetivo de aislar y diferenciar las células.
- Como parte de todas las técnicas y procedimientos se realizaron cálculos y comprobaciones como parte de formación dentro de los talleres brindados por la Universidad

OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

Al realizar mi servicio social en el Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, logré consolidar y reforzar conocimientos bioquímicos, químicos, biológicos y otros temas vistos durante la licenciatura. Este aprendizaje se dio a través de la aplicación de diversas técnicas moleculares, el perfeccionamiento de habilidades prácticas como el manejo de muestras, reactivos, y la integración y análisis de información, al igual que la resolución de problemas prácticos y planteamientos de problemas técnicos.

Participar en seminarios también me permitió desarrollar y aplicar un lenguaje formal y técnico adecuado para la presentación de resultados. Además, pude analizar comportamientos farmacológicos en modelos animales mediante la administración de diferentes fármacos en ratas, lo cual me ayudó a entender y estudiar respuestas farmacológicas en condiciones controladas. Asimismo, se adquirió experiencia en la gestión y eliminación de residuos conforme a las normas de seguridad y bioética, minimizando riesgos personales y ambientales.

Este servicio social no solo fortaleció mis conocimientos, sino que también sentó una base fundamental de experiencia para mi futuro profesional en el campo de la Química

Farmacéutica Biológica. Los aprendizajes y aportes obtenidos en este y otros proyectos realizados en el instituto representan una contribución significativa a mi desarrollo profesional y a mi preparación para enfrentar retos en el ámbito de la investigación científica y el cuidado de la salud.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados presentados a continuación son preliminares, ya que mi participación solo fue parte de un proyecto amplio.

Se realizaron las cirugías estereotáxicas para la formación de los grupos de estudio, para ello se les administro 6-OHDA y solución salina, se confirmó el grupo 6-OHDA por medio de la prueba de apomorfina en la cual se llevó un registro de los giros para determinar a las ratas con hemiparkinsonismo.



Figura 1. Cirugía estereotáxica

En la prueba de formalina para evaluar el dolor crónico, las sacudidas fueron más persistentes al inicio de la prueba hasta los 10 minutos, después de este tiempo eran muy tardadas, al final de la prueba se llevaron a punto final.



Figura 2. Prueba de formalina

Para la evaluación de la expresión génica de los receptores se comenzó por la disección del cerebro donde se extrajeron ambos lados del tálamo de las ratas para obtener el ARN mediante la técnica de Trizol, y con esto se realizó una RT-qPCR para la obtención de cDNA el cual fue utilizado para las PCR.

Los valores obtenidos de Pureza 260/280 fueron: 1.874 y 1.908 ng/uL

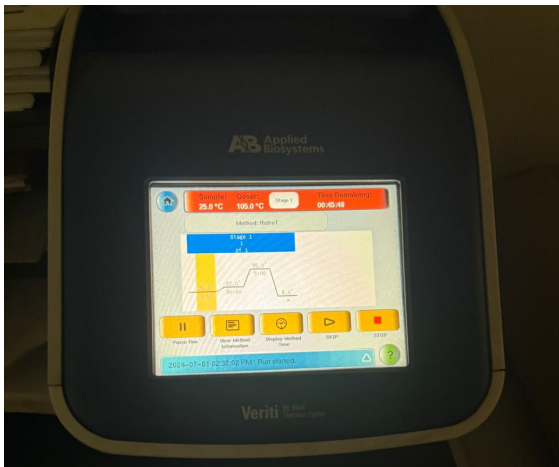


Figura 3. RT-qPCR

Se comenzó por evaluar nuestro gen de interés mediante diferentes PCR en tiempo real. Se estandarizó mediante diferentes PCR en los cuales variaba la temperatura, el número de ciclos, y concentración de primers con el fin de lograr una estandarización con las dos muestras obtenidas.

Las curvas de fluorescencia creadas por la amplificación son específicas, los negativos no amplificaron mientras que la temperatura óptima de amplificación fue 61°C, concentración de primers 0.5/0.5, un ciclaje de 40, en cuanto a la amplificación el melt curve se encuentra en los 90.11 y la amplificación entre 24 y 25 ciclos.



Imagen 4. RT-qPCR 5HT_{1A}

Se utilizó un gen endógeno (RPL27) para detectar que el gen de interés (5HT_{1A}) se estuviera expresando en el tálamo de la rata, se comenzó por estandarizar el gen endógeno y se realizaron varias corridas con ambos genes.

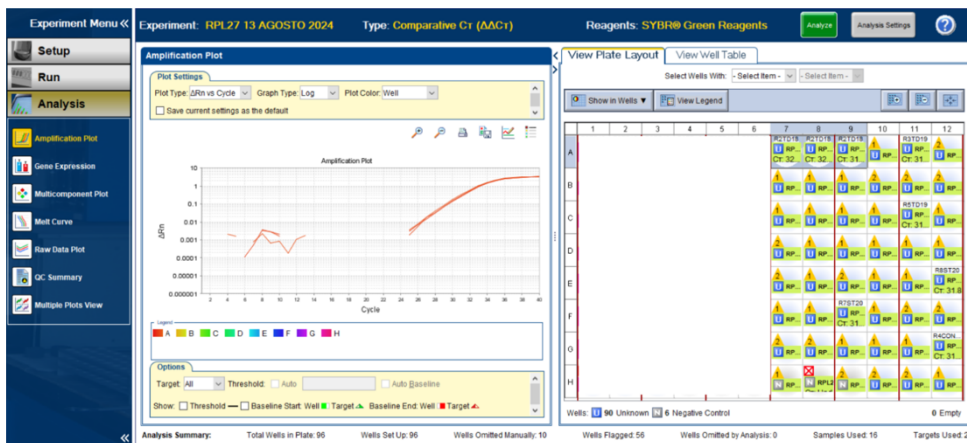


Figura 5. PCR RPL27

Para detectar que los genes se expresaran se utilizó electroforesis de gel de agarosa, para tener una mejor visión se probó con diferentes concentraciones de agarosa 0.25, 0.5 y 7 gramos, un voltaje de 80 durante 25, o 30. La estándar fue 0.5 g, 80 V por 25 min. Una vez teniendo los datos del PCR se corrió las muestras en el gel.

Nuestro gen de interés midió 300 pb, mientras que el gen endógeno RPL27 200 pb.

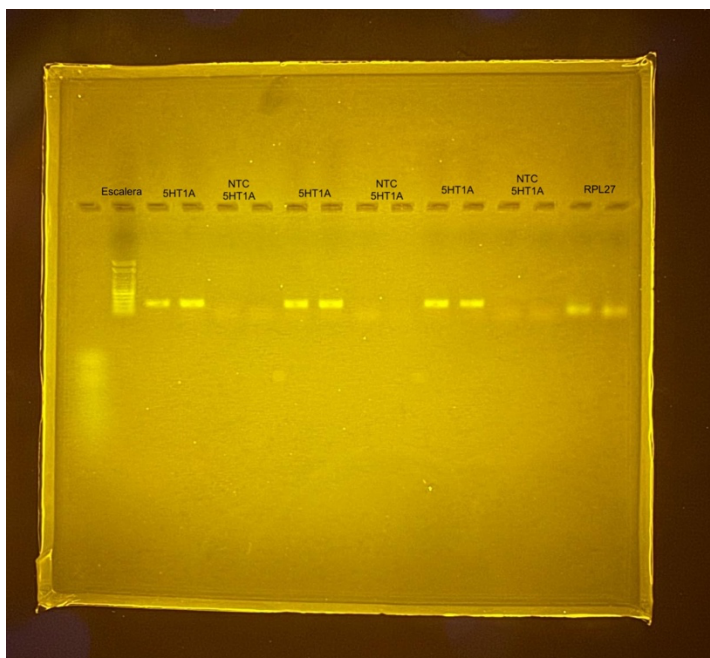


Figura 6. Electroforesis 5HT_{1A} y RPL27

Hacer mi servicio social en el Instituto Nacional de Rehabilitación fue una experiencia significativa que me ayudó a aplicar lo aprendido en la carrera y a desarrollar habilidades prácticas que van a ser clave para mi futuro profesional. Pude usar técnicas de laboratorio en un contexto real, trabajar con modelos animales, y entender cómo es el trabajo en un ambiente de investigación, y consolidar mis conocimientos.

Además, colaborar con un equipo tan diverso y especializado me dio una visión mucho más amplia del impacto que nuestro trabajo puede tener en la vida de las personas. Esta experiencia me aportó más conocimientos, práctica, y fortaleció mi confianza y compromiso de seguir contribuyendo en el campo de la salud y la investigación científica.

RECOMENDACIONES Y APOORTE A LA SOCIEDAD

Al participar en este proyecto amplio, se indagó y se hizo una búsqueda donde fue casi nula ya que no se encontraban estudios del receptor 5-HT_{1A} sobre la modulación del dolor en el tálamo, por lo cual se piensa que sería un área de importancia para el estudio de distintas enfermedades como lo fue en este proyecto el Parkinson. También, se recomienda hacer algunas pruebas de inmunohistoquímica, como prueba confirmatoria de estos receptores.

Al haber cursado la Licenciatura en Químico Farmacéutico Biológico en el área de salud, los docentes nos forman como los responsables de brindar salud y atención a la sociedad. Es por ello que, con el servicio social, retribuí lo aportado por mis profesores. Durante este tiempo apoyé a seguir con las investigaciones relacionadas a algunas enfermedades, que son de interés hoy en día me desarrollé personal y profesionalmente, adquirí habilidades como la ética profesional para mi carrera.

BIBLIOGRAFÍA

1. Parkinson J. An essay on the shaking palsy. Published by Sherwood, Neely, and Jones. 1817 London, 1817.
2. Beitz JM. Parkinson's disease: a review. *Frontiers in bioscience*. 2014;6:65-74.
3. Martínez-Fernández R, Gasca-Salas C, Sánchez-Ferro Á, Obeso JÁ. Actualización en la enfermedad de Parkinson. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2016;27:3:363-379.
4. Elizabeth MJ, Amin CA, Mayela RV. Calidad de vida en pacientes con enfermedad de Parkinson. *Rev Mex Neuroci*, 2010;11:6:480-486.
5. Ślawek J, Derejko M, Lass P. Factors affecting the quality of life of patients with idiopathic Parkinson's disease-a cross-sectional study in an outpatient clinic attendees. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2005;11:7:465-468.
6. Schapira AH, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2017;18:7:435.
7. Ayano G. Dopamine: receptors, functions, synthesis, pathways, locations and mental disorders: review of literatures. *J Ment Disord Treat*. 2016;2:120:2.
8. Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, Biglan KM, Holloway RG, Klebertz K, Marshall FJ, Ravina BM, Schifitto, Siderowf, Tanner CM. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology*. 2007;68:334-386
9. <https://www.gob.mx/inapam/es/articulos/parkinson-segunda-enfermedad-neurodegenerativa-mas-frecuente-en-personas-mayores-de-50-anos?idiom=es>
Revisado el 24/03/2021 (11:22)
10. Chou K. Clinical manifestations of Parkinson Disease. (2013)

11. Fritsch T, K Smyth, M Wallendal, T Hyde, G Leo, D Geldmacher. Parkinson Disease: Research update and clinical management. Southern Medical Association. 2012;105:12:650-656.
12. Davie CA. A review of Parkinson's disease. British medical bulletin.2008;86:1:109-127.
13. Fil A, Cano-de-la-Cuerda R, Muñoz-Hellín E, Vela L, Ramiro-González M, Fernández-de-Las-Peñas C. Pain in Parkinson disease: a review of the literature. Parkinsonism & related disorders. 2013;19:3:285-294.
14. Park A, Stacy M. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. J Neurol. 2009;256:293e8.
15. Simuni T, Sethi K. Nonmotor manifestations of Parkinson's disease. Ann Neurol. 2008;64:S65e80.
16. Bayulkem K, Lopez G. Non-motor fluctuations in Parkinson's disease: clinical spectrum and classification. J Neurol Sci 2010;289:89e92.
17. Wolters ECH. Non-motor extranigral signs and symptoms in Parkinson's disease. Parkinsonism Relat Disord 2009;3:S6e12.
18. Tarsy D. Motor fluctuations and dyskinesia in Parkinson Disease. (2013).
19. Wood PB. Role of central dopamine in pain and analgesia. Expert review of neurotherapeutics. 2008;8:5:781-797.
20. Chaudhuri KR, Healy DG, Schapira AH. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. Lancet Neurology 2006;5(3):235-45.
21. Jain S. Multi-organ autonomic dysfunction in Parkinson Disease. Parkinsonism and Related Disorders. 2011;17:77-83.
22. Hanagasi HA, Akat S, Gurvit H, Yazici J, Emre M. Pain is common in Parkinson's disease. Clinical neurology and neurosurgery. 2011;113(1):11-13.
23. Defazio G, Gigante A, Mancino P, Tinazzi M. The epidemiology of pain in Parkinson's disease. Journal of Neural Transmission. 2012;120(4):583-586.
24. Cortes J. Efecto del levetiracetam en la respuesta nociceptiva sobre los receptores 5-HT 1a y 5-HT 7 en tálamo y su participación en la modulación del dolor. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.
25. Mogil JS. Animal models of pain: progress and challenges. Nature Reviews Neuroscience. 2009;10(4):283-294.
26. Elliot HC. Textbook of Neuroanatomy. Philadelphia: Lippincott; 1969. Afifi AK, Bergman RA. Neuroanatomía funcional. Texto y atlas. México: McGraw-Hill Interamericana;1999.
27. Hirai T, Jones EG. A new parcellation of the human thalamus on the basis of histochemical staining. Brain Res Rev 1989;14:1-34.
28. Morel A, Magnin M, Jeanmonod D. Multiarchitectonic and stereotactic atlas of the human thalamus. J Comp Neurol 1997;387:588-630.
29. Perena MJ, Perena MF, Rodrigo-Royo MD, Romera E. Neuroanatomía del dolor. Rev. Soc. Esp. Dolor 2000;7:5-10,
30. AlmeidaTF, Roizenblatt S, Tufik S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. Brain Research 2004;1000:40-56
31. Yang YC, Hu CC, Huang, CS, Chou PY. Thalamic synaptic transmission of sensory information modulate by synergistic interaction of adenosine and serotonin. J. Neurochem. 2014;128:852-863.
32. Olfert E, Cross B, Mc William A. Guide for the care and use of experimental animals. Can Counc Anim Care. 1993;1:211.