

# Modelos experimentales de enfermedad de Parkinson

M.<sup>a</sup> R. Luquin

Unidad de Neurología Experimental. Departamento de Neurología. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona, Navarra, España.

## RESUMEN

Este artículo revisa los principales modelos animales de enfermedad de Parkinson disponibles. Éstos incluyen fundamentalmente el modelo de lesión unilateral del haz nigroestriado inducido por la inyección de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) en roedores y el modelo de parkinsonismo inducido por 1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridina (MPTP) en primates no humanos. Se analizan además las principales alteraciones neuroquímicas e histológicas que presentan así como su similitud con las descritas en la enfermedad de Parkinson. Por último, se postulan las aplicaciones de estos modelos.

## PALABRAS CLAVE

1-metil-4-fenil,1,2,3,6 tetrahidropiridina. 6-hidroxidopamina. Enfermedad de Parkinson.

Correspondencia: Dra. Rosario Luquin. Unidad de Neurología Experimental. Departamento de Neurología. Clínica Universitaria de Navarra. Pío XII, s/n. E-31008 Pamplona, Navarra. E-mail: rluquin@unav.es
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## INTRODUCCIÓN

La pérdida de neuronas dopaminérgicas (DA) de la sustancia negra compacta (SNc), junto a una disminución del contenido de dopamina estriatal, representan las alteraciones histológicas y neuroquímicas más importantes de la enfermedad de Parkinson (EP) y son responsables de la mayoría de las alteraciones motoras que presentan los pacientes parkinsonianos [1]. Por ello, el desarrollo de modelos animales de EP se ha orientado a inducir modificaciones estructurales o funcionales de la transmisión dopaminérgica nigroestriada. Lógicamente, como modelos que son, ninguno de ellos es superponible a lo que representa la EP desde el punto de vista motor, histológico o neuroquímico, pero son de gran utilidad para el estudio del funcionamiento de los ganglios basales, la actividad antiparkinsoniana de determinadas sustancias, el estudio de los mecanismos implicados en la muerte de las neuronas dopaminérgicas y la eficacia de posibles tratamientos neuroprotectores.

## PARKINSONISMO INDUCIDO POR NEUROTOXINAS

### 6-hidroxidopamina (6-OHDA)

La 6-OHDA es la neurotoxina más ampliamente utilizada en el desarrollo de modelos experimentales de EP en roedores. Cuando es administrada por vía sistémica destruye las neuronas adrenérgicas de los ganglios simpáticos, pero carece de acción tóxica a nivel del sistema nervioso central. Sin embargo, la inyección intracerebral de 6-OHDA produce una destrucción selectiva de neuronas catecolaminérgicas. Esta especificidad es debida a su alta afinidad por el sistema de transporte de catecolaminas [2]. Ungerstedt en 1968 [3] describió por primera vez que la inyección estereotáxica de 6-OHDA en el haz nigroestriado inducía una lesión selectiva de las neuronas DA de la SN.

Aunque existen estudios que demuestran que la 6-OHDA posee una potente acción inhibitoria de la cadena respiratoria mitocondrial [4], la muerte neuronal DA inducida por 6-OHDA está ligada fundamentalmente a la formación de  $H_2O_2$ , radicales libres tipo hidroxilo (OH) y quinonas que se producen en su metabolización [5]. Así, sustancias antioxidantes como vitamina E [6] o N-acetil-cisteína [7], inhibidores de la MAO y quelantes de hierro como desferroxamina [8] protegen a las neuronas DA de la acción neurotóxica de la 6-OHDA.

La inyección de 6-OHDA en el haz nigroestriado induce una degeneración neuronal que afecta por igual a las neuronas DA de la sustancia negra pars compacta ( $A_9$ ) que proyectan al estriado y a las del área tegmental ventral (ATV  $A_{10}$ ), que forman parte del sistema dopaminérgico mesolímbico [9]. Produce además alteraciones neuroquímicas en el estriado, que se caracterizan por un descenso muy importante de los niveles de DA, serotonina, encefalina y sustancia P, mientras que los niveles estriatales de neurotensina aumentan [10,11]. Desde el punto de vista histológico, en general la lesión de SN inducida por 6-OHDA es más extensa que la que se objetiva en los pacientes parkinsonianos en los que las neuronas del ATV están parcialmente respetadas. Por ello, algunos autores han propuesto utilizar como modelo de EP la inyección de 6-OHDA directamente en la SN pars compacta, evitando de esta manera la afectación de las neuronas DA del área  $A_{10}$  [12].

Desde el punto de vista conductual, los animales con lesión unilateral de la SN, inducida por inyección directa en el haz nigroestriado o en la SN, presentan inmediatamente después de la cirugía y de forma espontánea una conducta rotatoria ipsilateral a la lesión que se mantiene durante las 24 horas siguientes. Esta conducta rotatoria es debida al desequilibrio que existe entre el contenido de dopamina en el estriado homolateral y contralateral a la lesión dopaminérgica, de tal forma que el animal tiende a rotar siempre hacia el lado contralateral al estriado dominante [13].

La lesión unilateral de la SN induce cambios neuroquímicos y electrofisiológicos en el sistema nigroestriado que intentan compensar el déficit de dopamina inducido por la pérdida de neuronas dopaminérgicas. Por ejemplo, se ha descrito una inducción y activación de tirosina hidroxilasa (enzima limitante de la síntesis de catecolaminas) en las neuronas dopaminérgicas todavía funcionantes, aumento de la cantidad de dopamina liberada en el estriado por las terminales dopaminérgicas existentes y un incremento en el número de receptores dopaminérgicos estriatales postsinápticos (*up regulation*) [14-16]. Este incremento aparece únicamente cuando la pérdida de neuronas dopaminérgicas es superior al 90% y tiene lugar al cabo de cuatro semanas de haberse producido la denervación dopaminérgica [17]. En general, la mayoría de los trabajos publicados demuestran que el fenómeno de hipersensibilidad por denervación o *up regulation* afecta preferentemente a los receptores dopaminérgicos estriatales D<sub>2</sub>, mientras que el número de receptores D<sub>1</sub> incrementa levemente o no se modifica. Sin embargo, aunque algunos cambios neuroquímicos son ya evidentes con lesiones dopaminérgicas parciales, la actividad de las neuronas dopaminérgicas de la SN se incrementa cuando la depleción de DA estriatal es superior al 96% [18]. En el resto de los casos la frecuencia de descarga de las neuronas DA de la SN se incrementa, pero no es suficiente para compensar el déficit de DA.

Los animales con lesión unilateral de la vía nigroestriada presentan una rotación ipsilateral a la lesión cuando se les administran sustancias que aumentan la liberación de dopamina, como anfetamina, y muestran una rotación contralateral al lado de la lesión cuando reciben agonistas dopaminérgicos como apomorfinina. La rotación contralateral inducida por apomorfinina u otros agonistas dopaminérgicos es debida al incremento del número de receptores dopaminérgicos que existe en el estriado homolateral a la lesión como consecuencia de la denervación. Por el contrario, la anfetamina, al aumentar la liberación de dopamina en las terminales presinápticas, incrementa la concentración de DA únicamente en el estriado contralateral a la lesión, produciéndose un desequilibrio funcional a favor del estriado contralateral.

La administración de 6-OHDA en la SN o en el haz nigroestriado induce una degeneración estática, rápida y casi completa de las neuronas DA de la SN. Esta degeneración difiere sustancialmente de la que ocurre en la EP en la que hipotéticamente la pérdida neuronal es lenta y progresiva. Por ello, en los últimos años está siendo utilizado como modelo de degeneración neuronal DA la inducida por inyección estriatal de 6-OHDA. La inyección estriatal única de 6-OHDA (20 µg) o en infusión continua produce una atrofia y degeneración lenta y progresiva de las neuronas DA de la sustancia negra homolateral [19]. En este caso, la degeneración neuronal no parece ser debida aun transporte axonal retrógrado de la neurotoxina desde el estriado hacia las neuronas DA nigrales, sino que corresponde a una degeneración neuronal retrógrada secundaria a la lesión de terminales DA nigroestriadas [20]. Este modelo resulta muy interesante por varias razones. En primer lugar, representaría un modelo de

EP en un estadio inicial de la enfermedad ya que la pérdida neuronal que se obtiene varía entre un 60 y un 70%. Por otro lado, permite de acuerdo a la dosis de 6-OHDA inyectada en el estriado, obtener una lesión parcial nigroestriada y por lo tanto puede ser el modelo ideal a utilizar para el estudio del efecto neuroprotector de determinadas sustancias. Por último, el hecho de que la inyección estriatal de 6-OHDA induzca una degeneración progresiva de las neuronas DA de la SN apunta la posibilidad de que en la EP la degeneración primaria ocurra a nivel de las terminales dopaminérgicas estriatales y secundariamente exista una degeneración retrógrada de las neuronas DA de la SN. Esta hipótesis es apoyada por el hecho de que neurotoxinas dopaminérgicas como 6-OHDA y MPTP cuando se administran por vía sistémica o intraventricular resultan más tóxicas sobre las terminales DA que sobre el soma neuronal (Fig. 1).

### **Parkinsonismo inducido por MPTP**

La 1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridina (MPTP) es un derivado meperidínico. Su capacidad de inducir un síndrome parkinsoniano fue descubierta en un grupo de heroinómanos que, de forma accidental, se inyectaron esta sustancia [21]. Estos sujetos mostraban un síndrome parkinsoniano indistinguible desde el punto de vista semiológico de la EP y toda su sintomatología revertía con levodopa o agonistas dopaminérgicos. Posteriormente se comprobó que su administración a animales de laboratorio, y fundamentalmente a primates no humanos, producía un síndrome parkinsoniano asociado a una degeneración selectiva de las neuronas dopaminérgicas de la SNc.

### **Especies animales**

La neurotoxicidad del MPTP ha sido demostrada en diversas especies animales, entre ellas macacos, ratones negros (C57) y gatos [22-24]. No existe una explicación adecuada para la diferente vulnerabilidad de las distintas especies animales al MPTP. Se ha postulado que pueden estar relacionadas con diferencias en el metabolismo del MPTP, y en la distribución y retención cerebral de su metabolito  $MPP^+$  [25]. Para algunos autores la neurotoxicidad del MPTP es dependiente del contenido en neuromelanina ya que la afinidad del  $MPP^+$  por la neuromelanina es muy alta y este pigmento está presente en las neuronas DA, mientras que para otros está relacionada con la actividad MAO-B a nivel de los capilares cerebrales [26,27].

Aunque especies animales como la rata son resistentes a la administración sistémica de MPTP, su metabolito  $MPP^+$  es una toxina potente y produce destrucción de las neuronas DA de la SN cuando se administra en estriado. Por lo tanto, es posible que la diferente vulnerabilidad que presentan las especies animales al MPTP sea dependiente de factores relacionados con la distribución y metabolización cerebral del MPTP [28].

### **Alteraciones conductuales**

La exposición de humanos al MPTP da lugar a un síndrome parkinsoniano crónico caracterizado por temblor, acinesia, rigidez, postura en flexión, alteración de reflejos posturales y tendencia al mutismo, que revierte con la administración de levodopa o

agonistas DA [29]. Una gran variedad de primates no humanos desarrollan también un síndrome parkinsoniano cuando se les administra MPTP. Estos animales muestran una reducción muy importante de la actividad espontánea, rigidez, bradicinesia y temblor de actitud. Muy pocos desarrollan el temblor de reposo característico de la EP. Los síntomas parkinsonianos son inicialmente transitorios, pero se hacen permanentes con la administración repetida de la toxina. Los mecanismos implicados en la recuperación espontánea que experimentan estos animales no se conocen, pero pueden estar relacionados con una alteración transitoria de otros sistemas de neurotransmisión, diferentes al nigroestriado [30].

### **Características histológicas**

Hasta el momento únicamente se dispone del estudio necrópsico de uno de los individuos que desarrollaron un síndrome parkinsoniano tras inyectarse una droga de diseño que contenía MPTP. El estudio histológico mostró una lesión selectiva de las células DA de la SNc [29]. Sin embargo, los estudios realizados en primates no humanos han demostrado que la lesión inducida por MPTP no afecta de forma exclusiva a esta población neuronal [31]. Diversos autores han demostrado que en macacos añosos la administración de MPTP induce, además, una degeneración de las neuronas DA del ATV y del *locus coeruleus*, donde se han descrito cuerpos de inclusión eosinofílicos semejantes a los cuerpos de Lewy que existen en los cerebros de los pacientes con EP [32]. La degeneración del ATV, aunque en menor grado, es evidente también en los primates jóvenes. Sin embargo, la pérdida neuronal es siempre de mayor intensidad en las neuronas DA de la SNc [33].

### **Alteraciones neuroquímicas**

Desde un punto de vista neuroquímico existe una gran similitud entre el parkinsonismo inducido por MPTP y la EP. La acción neurotóxica del MPTP produce una gran variedad de cambios neuroquímicos que, a nivel de la transmisión DA, se caracterizan por una reducción de la concentración de DA y de sus metabolitos ácido 3,4-dihidroxifenilacético y ácido homovanílico, disminución de la actividad de la enzima tirosina hidroxilasa y alteración en la densidad de receptores DA [34,35]. Al contrario de lo que sucede en la EP, donde la depleción de DA es más intensa en el putamen que en núcleo caudado, los primates no humanos expuestos de forma crónica a la acción del MPTP muestran una disminución homogénea y no selectiva del contenido de DA estriatal, siendo de igual intensidad en ambas estructuras estriatales. Otras áreas cerebrales con inervación DA, como el núcleo accumbens, hipocampo, amígdala y córtex cerebral también son afectadas por MPTP y la reducción en el contenido de DA es similar a la descrita en el estriado. Por el contrario, los niveles de DA no se alteran en estructuras como el globo pálido lateral y medial, que recibe proyecciones directas de la SN [36].

Las concentraciones de noradrenalina y serotonina en el estriado no se modifican con la administración aguda de MPTP. Sin embargo, se reducen de forma significativa en el estriado y la corteza en los animales tratados de forma crónica con esta neurotoxina. No

existe evidencia de que el MPTP induzca alteraciones en los sistemas colinérgico, gabérgico o glutamatérgico en primates no humanos. Sin embargo, los niveles de diferentes neuropéptidos, sustancia P, dinorfina y encefalina en el estriado, sustancia negra y pálido están reducidos en animales tratados crónicamente con MPTP [35]. Estas mismas alteraciones se han descrito en pacientes con EP. Sin embargo, no se conoce si son consecuencia de la degeneración de neuronas que contienen estos péptidos o representan cambios adaptativos a la denervación nigroestriada (Tabla).

### **Mecanismo de toxicidad**

El MPTP, tras su administración, desaparece rápidamente de los tejidos biológicos y es convertido en un derivado piridínico, 1-metil-4-fenil 2,3,dihidropiridínico MPDP<sup>+</sup> y MPP<sup>+</sup> por la acción de la enzima monoaminooxidasa-B (MAO-B) [37]. Aunque ambas formas de MAO oxidan el MPTP in vitro, únicamente los inhibidores de la MAO-B, como deprenil y pargilina, son capaces de bloquear la toxicidad del MPTP in vivo [38]. Por el contrario, inhibidores de la MAO-A, como clorgilina [39], resultan ineficaces. Esta aparente paradoja puede ser explicada por la diferente cinética de las dos formas de MAO, o probablemente porque los sitios de metabolización del MPTP por la MAO-B y MAO-A en el cerebro son diferentes [40].

Existe evidencia de que el primer paso metabólico de MPTP a MPDP<sup>+</sup> no tiene lugar en las neuronas DA ya que éstas tienen una actividad MAO-B muy baja [41]. Originalmente se atribuyó a las neuronas serotoninérgicas del rafe la transformación del MPTP por tener una actividad MAO-B muy elevada, sin embargo, es más probable que ésta tenga lugar en las células gliales que rodean a las neuronas DA [42].

Aunque existe la posibilidad de que la toxicidad inducida por MPTP se deba a su metabolito intermedio MPDP<sup>+</sup>, la mayoría de los trabajos publicados sugieren que la toxicidad está ligada al MPP<sup>+</sup>. Por ejemplo, tras la administración sistémica de MPTP, el MPP<sup>+</sup> se acumula en el sistema DA nigroestriado, en cultivos de células DA y, en hepatocitos aislados, el MPP<sup>+</sup> es una toxina muy potente; la inyección intraestriatal de MPP<sup>+</sup> es tóxica sobre las neuronas DA de la SN y, por último, el MPP<sup>+</sup> inhibe enzimas implicadas en la síntesis de DA [43-45]. Basándose en estos hallazgos, la mayoría de los trabajos se han centrado en el estudio de cómo el MPP<sup>+</sup> ejerce su acción tóxica sobre las neuronas DA (Fig. 2).

### **Estrés oxidativo**

Una de las hipótesis propuestas para explicar la muerte neuronal inducida por MPTP sugiere que el daño celular se origina por la producción intraneuronal de radicales superóxido y otros radicales libres citotóxicos producidos durante la oxidación intracelular del MPP<sup>+</sup>, en cantidades que exceden la capacidad celular para neutralizarlos [46]. Esta hipótesis se sustentó inicialmente de acuerdo con la homología que existe entre el MPP<sup>+</sup> y el herbicida paraquat.

En homogeneizados de cerebro, el MPTP induce la producción de radicales hidroxilo, y acelera el acúmulo de lipofucsina en el cerebro, especialmente si el medio carece de

vitamina E [47,48]. Por otro lado, el MPTP y  $MPP^+$  incrementan la autoxidación de la DA que, a su vez, genera radicales libres, y disminuyen los niveles intracelulares de glutatión en roedores, efecto que es bloqueado por antioxidantes como la vitamina E.

Pero, si el daño DA inducido por MPTP se relacionase con una producción excesiva de radicales libres, los antioxidantes y los quelantes de radicales libres protegerían frente a la toxicidad del MPTP. Sin embargo, la administración de ácido ascórbico o  $\alpha$ -tocoferol no reducen el daño dopaminérgico inducido por MPTP y quelantes potentes de metales de transición no sólo no protegen frente al MPTP sino que exacerban su toxicidad [49,50].

Aunque la mayoría de los trabajos apuntan hacia la no participación de los radicales libres en la muerte celular inducida por MPTP, recientemente se ha demostrado en roedores y primates que inhibidores de la óxido nítrico sintasa (NOS) protegen de forma eficaz frente a la lesión DA inducida por el MPTP [51]. La NOS es una enzima dependiente de calcio cuya activación se produce por estimulación de receptores NMDA. De su activación depende la síntesis de óxido nítrico el cual, a su vez, puede producir una inhibición directa de la cadena respiratoria mitocondrial o dar lugar a la formación de peroxinitritos, que son potentes inductores de estrés oxidativo [52] (Fig. 3).

### **Hipótesis mitocondrial**

Una segunda hipótesis de toxicidad se ha centrado en los hallazgos de que el  $MPP^+$  es un potente inhibidor de la respiración celular ligada a NDAH. Nicklas et al [53] fueron los primeros en describir in vitro que el  $MPP^+$  producía a altas concentraciones (1 mM), una inhibición completa de la oxidación de los sustratos piruvato/maleato y glutamato/maleato ligados a  $NAD^+$ . In vivo, donde se requieren concentraciones mucho mayores del tóxico (10 mM) para que tenga lugar la inhibición de la cadena transportadora de electrones, se ha comprobado que el  $MPP^+$  es transportado desde el citoplasma al interior de la mitocondria en contra de un gradiente dependiente de ATP [54].

Los efectos del  $MPP^+$  sobre las mitocondrias han sido bien caracterizados. A altas concentraciones bloquea la oxidación de la NADH, existiendo una perfecta correlación entre el cúmulo de  $MPP^+$  y la depleción de ATP. Por otro lado, la inhibición del transporte de electrones mitocondrial induciría una disminución en la producción de APT celular, que daría lugar a una alteración en la organización de los microfilamentos celulares. Finalmente, la depleción de ATP inducida por  $MPP^+$  provocaría una alteración de los potenciales transmembrana y una depleción de glutatión reducido (GSH) extracelular, principal defensa de la célula frente al estrés oxidativo [55].

Aunque la inhibición del complejo I mitocondrial resulta suficiente para explicar la toxicidad celular, no puede excluirse la posibilidad de que el estrés oxidativo inducido por MPTP y/o  $MPP^+$  en el interior de la mitocondria pueda contribuir a la acción tóxica del MPTP. Por ejemplo, se ha demostrado que el  $MPP^+$  induce peroxidación lipídica en cultivos de células DA y ésta es bloqueada por inhibidores específicos de la peroxidación lipídica [56,57].

## **Alteración de la homeostasis del calcio**

Estudios realizados en hepatocitos aislados sugieren que el evento bioquímico específico que precede a la muerte celular es la depleción de  $\text{Ca}^{++}$  mitocondrial, seguido de un incremento muy marcado en la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  citosólico, secundario a una alteración del transporte de  $\text{Ca}^{++}$  a través de la membrana celular [58]. El incremento de la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  intracelular puede ser el mecanismo de muerte común en diferentes condiciones, como la isquemia o la neurodegeneración inducida por 6-OHDA y MPTP. La neuroprotección obtenida frente a  $\text{MPP}^+$  con antagonistas NMDA [59] ha sido interpretada en función del bloqueo en la entrada de  $\text{Ca}^{++}$  que producen estos agentes. Del mismo modo, antagonistas del  $\text{Ca}^{++}$  como nimodipino también reducen el daño celular inducido por MPTP [60].

## **OTROS MODELOS EXPERIMENTALES**

Las nuevas técnicas de biología molecular han permitido obtener cepas de ratones en las que se ha eliminado la expresión de determinados genes. Para el estudio de la EP se dispone en la actualidad de ratones que carecen específicamente de un subtipo de receptor DA, lo cual ha ayudado a conocer su verdadera función en las respuestas motoras mediadas por DA, así como su posible acción moduladora en el funcionamiento de los ganglios basales. Por ejemplo, el análisis histológico de ratones que carecen de receptores DA  $\text{D}_1$  no muestra diferencias anatómicas groseras en relación con los animales control. Sin embargo, la expresión de dinorfina está enormemente reducida en el estriado y estructuras relacionadas de los ganglios basales. Estos animales muestran de forma espontánea una marcada hiperactividad motora que no se modifica por la acción de agonistas o antagonistas  $\text{D}_1$  [61,62]. Estos resultados sugieren que los receptores DA  $\text{D}_1$  modulan, por una parte, la arquitectura neuroquímica de los ganglios basales, y su expresión resulta crítica para que exista una conducta motora normal. Resultados similares se han observado en ratones que carecen de receptores DA  $\text{D}_3$  [63]. Estos animales muestran una marcada hiperactividad motora, lo que sugiere que los receptores  $\text{D}_3$  ejercen una función inhibitoria en la expresión de determinadas respuestas motoras mediadas por la DA. Por el contrario, ratones que no expresan receptores DA  $\text{D}_2$  muestran una marcada rigidez, hipocinesia, alteraciones posturales y una actividad motora espontánea reducida, que se asemeja a la sintomatología descrita en los pacientes con EP [64]. De acuerdo con estos hallazgos parece claro que la estimulación de receptores DA  $\text{D}_2$  es responsable de la mejoría clínica de los pacientes con EP en tratamiento con levodopa y cuestionan la utilidad de agonistas selectivos  $\text{D}_1$  y  $\text{D}_3$  en el tratamiento de estos pacientes.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Luquin MR, Saldise L. Sistema dopaminérgico y muerte neuronal. Rev Neurol 1997; 25: S129-40.



2. Jonsson G, Sachs Ch. Effects of 6-hydroxydopamine on the uptake and storage of noradrenaline in sympathetic adrenergic neurons. *Eur J Pharmacol* 1970; 9: 141-55.
3. Ungerstedt U. 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol* 1968; 5: 107-10.
4. Glinka Y, Youdim MHB. Inhibition of mitochondrial complexes I and IV by 6-hydroxydopamine. *Eur J Pharmacol-Environ Toxicol Pharmacol Sect* 1995; 295: 329-32.
5. Jonsson G. Studies on the mechanisms of 6-hydroxydopamine cyto-toxicity. *Med Bil* 1976; 54: 406-20.
6. Cadet JL, Katz M, Kackson-Lewis V, Fahn S. Vitamin E attenuates the toxic effects of intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) in rats: behavioural and biochemical evidence. *Brain Res* 1991; 476: 10-5.
7. Luquin MR, Domínguez JJ, Del Rio L, Zbarsky V, Guillén J. N-acetylcysteine produces dopaminergic neuronal death induced by 6-OHDA: *Mov Disord* 1996; 11 (Suppl 1): 144.
8. Ben-Shachar. D, Eshel G, Finberg JP, Youdim MB: The iron chelator desferoxamine (Deferal) retards 6-hydroxydopamine-induced degeneration of nigrostriatal dopamine system: *J Neurochem* 1991; 56:1441-4.
9. Ungersted U: Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxydopamine induced degeneration of nigrostriatal dopamine system: *Acta Physiol Scand Suppl* 1971; 3671: 69-93
10. Takeuchi Y, Sawada T, Blunt S, Jenner, P, Marsden CD: Effects of 6.OHDA lesions of the nigrostriatal pathway on striatal serotonin innervation in adult rats: *Brain Res* 1991; 562: 301-5.
11. Taylor MD, De Ceballos ML, Rose S, Jenner P, Marsden CD: Effects of unilateral 6-hydroxydopamine lesion and prolonged L=3,4=hydroxyphenylalanine treatment on peptidergic systems in the rat basal ganglia. *Eur J Pharmacol* 1992; 219: 183-92.
12. Perese DA, Ulman J, Viola J, Ewing SE, Bankiewicz KS: A 6-hydroxydopamine-induced selective parkinsonian rat model. *Brain Res* 1989; 494: 295-93.
13. Zigmond MJ, Berger TW, Grace AA, Stricker EM: Compensatory responses to nigrostriatal bundle injury: studies with 6-hydroxydopamine in an animal model of parkinsonism. *Mol Chem Neuropathol* 1989; 10: 185-200.
14. Acheson Y, Zigmond MJ, Stricker EM: Compensatory increase in tyrosine hydroxylase activity in rat brain after intraventricular injection of 6-hydroxydopamine. *Science* 1980; 207: 537-40.
15. Creese Y, Burt DR, Snyder SH. Dopamine receptor binding enhancement accompanies lesion-induced behavioural supersensitivity. *Science* 1977; 197: 596-8.
16. Ichitani Y, Okamura H, Nakahara D, Nagatsu Y, Iyata Y: Biochemical and immunocytochemical changes induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine injection in the rat nigrostriatal-dopamine neuron system: evidence for cell death in the substantia nigra. *Exp Neurol* 1994; 130: 269-78.
17. Ungersted U, Arbuthnott G. Quantitative recording of rotational behaviour in rats after 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res* 1970; 24: 485-93:

18. Hollerham RJ, Grace AA. The effects of dopamine-depleting brain lesions on the electrophysiological activity of rat substantia nigra dopamine neurons. *Brain Res* 1990; 533: 203-12.
19. Lee CS, Sauer H, Björklund A: Dopaminergic neuronal degeneration and motor impairment following axon terminal lesion by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat: *Neuroscience* 1996; 72: 641-53.
20. Sauer H, Oartel WH. Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesion with 6-hydroxydopamine a combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat. *Neuroscience* 1994; 59: 401-15.
21. Langston JW, Ballard PA, Tetrud JW, Irwin I: Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 1983; 219: 979-80.
22. Aral N, Migusi K, Goshima Y, Misu Y. Evaluation of a 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-treated C57 black mouse model for parkinsonism *Brain Res* 1990; 515: 57-63.
23. Burns RS, Chiueh CC, Markey SP, Ebert MH, Jacobowitz DM, Kopin IJ: A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridine. *Proc Nat Acad Sci U S A* 1983; 80: 4546-50.
24. Jenner P, Rupinak NMJ, Rose S, Kelly E, Kilpatrick G, Lees A, et al. 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridine-induced parkinsonism in the common marmoset. *Neurosci Lett* 1984; 50: 85-90.
25. Johannessen JN, Chiueh CC, Burns RS, Markey SP. Differences in the metabolism of MPTP in the rodent and primate parallel differences in sensitivity to its neurotoxic effects. *Life Sci* 1985; 36: 219-24.
26. D'Amato RJ, Lipman ZP, Snyder SH: Selectivity of the parkinsonian neurotoxin MPTP: toxic metabolite MPP<sup>+</sup> binds to neuromelanin *Science* 1986; 231: 987-9.
27. Kalaria NR, Harik SI. Blood-brain barrier monoamine oxidase enzyme characterization in cerebral microvessels and other tissue from mammalian species, including human. *J Neurochem* 1987; 49: 856-64.
28. Langston JW: Mechanism of MPTP toxicity: more answers more questions: *Trends Pharmacol Sci* 1985; 6: 375-81
29. Davis GC, Williams AC, Markey SP, Ebert MH, Calne DE, Richert CM, et al: Chronic parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogous. *Psychiatry Res* 1979; 1: 249-51.
30. Elsworth JD, Deutch DE, Redmond Jr JR, Taylor JR, Sladek Jr, Roth RH. Symptomatic and asymptomatic 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated primates: biochemical changes in striatal regions. *Neuroscience* 1989; 33: 323-31:
31. Forno LS, Langston JW, DeLanney LE, Irwin I, Ricaurte A: Locus ceruleus lesions and eosinophilic inclusions in MPTP-treated monkeys. *Ann Neurol* 1986; 20: 249-55.
32. Forno LS, Langston JW, DeLanney LE, Irwin I. An electron microscopic study of MPTP-induced inclusion bodies in an old monkey: *Brain Res* 1988; 448: 150-7.
33. German DC, Dubach M, Askari S, Speciale SG, Bowden DM. 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridine-induced parkinsonian syndrome in *Macaca Fascicularis*: which mid-brain dopaminergic neurons are lost? *Neuroscience* 1988; 24: 161-74.

34. Perez-Otaño Y, Herrero MT, Luquin MR, Obeso JA, Del Rio J: Chronic MPTP treatment reduces substance P and met-enkephalin content in the basal ganglia of the marmoset. *Brain Res* 1992; 585: 156-60.
35. Perez-Otaño Y, Oset C, Herrero MT, Luquin MR, Obeso JA, Del Rio J: MPTP-Induced parkinsonism in primates: pattern of striatal dopamine loss following acute and chronic administration. *Neurosci Lett* 1994; 175: 121-5.
36. Pifl C, Bertel O, Schingnitz G, Hornykiewicz O. Extrastriatal dopamine in symptomatic rhesus monkeys treated with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridine (MPTP): *Neurochem Int* 1992; (Suppl): 295S-7S.
37. Chiba K, Trevor A, Castaglione Jr N. Metabolism of the neurotoxic tertiary amine, MPTP, by brain monoamine oxidase. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 120: 574-8.
38. Cohen G, Pasik P, Cohen B, Leist A, Mytilineou C, Yahr MD: Pargyline and deprenyl prevent the neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridine (MPTP) in monkeys. *Eur J Pharmacol* 1984; 100: 189-94.
39. Heikkila RE, Manzino L, Cabbat FS, Douvoisin RC: Protection against the dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridine by monoamine oxidase inhibitors. *Nature* 1984; 311: 467-9.
40. Salach JJ, Singer TP, Castaglione Jr C, Trevor A: Oxidation of the neurotoxic amine 1-methyl-4-phenyl 1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) by the monoamine oxidases A and B and suicide inactivation of the enzymes by MPTP: *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 125: 831-5.
41. Konradi C, Kornhuber J, Froelich L, Fritze J, Heinsen H, Beckmann H, et al. Demonstration of monoamine oxidase-A and B in the human brainstem by histochemical technique: *Neuroscience* 1989; 33: 383-400.
42. Takada M, Li ZK, Hattori T: Astroglial ablation prevents MPTP induced nigrostriatal neuronal death. *Brain Res* 1990; 509: 55-61.
43. Di Monte D, Irwin I, Kupsch A, Cooper S, DeLanney LE, Lansgton JW: Diethyldithiocarbamate and inhibit MPP<sup>+</sup> and dopamine uptake by striatal synaptosomes. *Eur J Pharmacol* 1989; 166: 23-9.
44. Mytilineou C, Cohen G: Deprenyl protects dopamine neurons from the neurotoxic effect of 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP). *J Neurochem* 1985; 45: 1951-3.
45. Michel PP, Dandapani BK, Knusel B, Sánchez-Ramos J, Hefti E: Toxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridinium for rat dopaminergic neurons in culture: selectivity and irreversibility. *J Neurochem* 1990; 54: 1102-9.
46. Kopin JD, Toxins and Parkinson's disease: MPTP parkinsonism in humans and animals. *Adv Neurol* 1986; 45: 137-44.
47. Adams JD, Odunze JN, Sevanian A. Induction by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine of lipid peroxidation in vivo in vitamin E deficient mice. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: R5.
48. Hadjiconstantinou M, Tjioe S, Alho H, Miller C, Neft NH. 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) accelerates the accumulation of lipofuscin in mouse adrenal gland. *Neurosci Lett* 1987; 83: 1-6.
49. Luquin MR, Zbarsky V, Del Rio L, Domínguez JJ, Gullén J. Desferoxamine does not protect against MPP<sup>+</sup>-induced toxicity in rats. *Mov Disord* 1996; 11 (Suppl 1): 144.
50. Corsini GU, Pintus S, Chiueh CC, Weiss JF, Kopin JJ. 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) neurotoxicity in mice is enhanced by pretreatment with diethyldithiocarbamate. *Eur J Pharmacol* 1985; 119: 127-8.

51. Hantraye P, Brouillet E, Ferrante R, Palfi S, Dolan R, Mattews RT. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase prevents MPTP-induced parkinsonism in baboons. *Nat Med* 1996; 2: 965-76.
52. Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH: A novel neuronal messenger molecule in the brain: the free radical, nitric oxide: *Ann Neurol* 1992; 32: 297-311.
53. Nicklas WJ, Vyas I, Heikkila RE. Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenyl-pyridine, a metabolite of the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Life Sci* 1985; 36: 2503-8.
54. Ramsay RR, Dagdar J, Trevor A, Singer TP. Energy-driven uptake of N-methyl-4-phenylpyridine by brain mitochondria mediates the neurotoxicity of MPTP. *Life Sci* 1996; 39: 581-588.
55. Mizuno Y, Sone N, Saitoh T. Effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and 1-methyl-phenyl-pyridinium ion on activities of the enzymes in the electron transport system in mouse brain. *J Neurochem* 1987; 48: 1987-93.
56. Hasegawa E, Takeshige K, Oishi T, Murai Y, Minakami S. 1-Methyl-4-phenylpyridinium (MPP+) induces NADH-dependent superoxide formation and enhances NADH-dependent lipid peroxidation in bovine heart submitochondrial particles. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 170: 1049-55.
57. Sánchez-Ramos JR, Song, S, Mash DC, Wiener WJ. 21 aminosteroids interact with the dopamine transporter to protect against 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced neurotoxicity. *J Neurochem* 1992; 58: 328-34.
58. Kass GEN, Wright JM, Nicotera P, Orrenius S. The mechanism of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine toxicity: role of intracellular calcium. *Arch Biochem Biophys* 1988; 260: 789-97.
59. Turski L, Bressler K, Retting TU, Löschmann PA, Wachtel H. Protection of substantia nigra neurons from MPP+ neurotoxicity by N-methyl-D-aspartate antagonists. *Nature* 1991; 349: 414-8
60. Kupsch A, Gerlach M, Puppeter SC, et al. Pretreatment with nimodipine prevents MPTP-induced neurotoxicity at the nigral but not at striatal level in mice. *Neuroreport* 1995; 6: 621-5.
61. Xu M, Moratalla R, Gold LH, Hiroi N, Koob GF, Graybiel AM, Tonewaga S. Dopamine D1 receptor mutant mice are deficient in striatal expression of Dynorphin and in dopamine-mediated behavioural responses. *Cell* 1994; 79: 729-42.
62. Xu M, Hu XT, Cooper DC, Moratalla R, Graybiel AM, White FJ, et al. Elimination of cocaine-induced mediated neurophysiological effects in dopamine receptor mutant mice. *Cell* 1994; 79: 945-55.
63. Accili D, Fishburn SC, Drago J, Steiner H, Lachowicz JE, Park BH, et al. A targeted mutation of the D3 dopamine receptor gene is associated with hyperactivity in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 1945-9.
64. Baik JH, Picetti R, Salardi A, Thiriet G, Dierich A. Parkinsonian-like locomotor impairment in mice lacking dopamine D2 receptors. *Nature* 1995; 377: 424-8.

# **MODELOS EXPERIMENTÁIS DA DOENÇA DE PARKINSON**

## **RESUMO**

Neste artigo são revistos os principais modelos animais disponíveis da doença de Parkinson. Estes incluem fiadamente o modelo de lesão unilateral do eixo nigra estriado, induzido por injeção de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) em roedores e o modelo de parkinsonismo, induzido por 1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridina (MPTP) em primatas não humanos. Foram também analisadas as principais alterações neuroquímicas e histológicas que apresentam, assim como, a sua semelhança com as descritas na doença de Parkinson. Por fim, postulam-se as aplicações destes modelos.

## **PALAVRAS CHAVE**

1-metil-4-fenil,1,2,3,6 tetrahidropiridina. 6-hidroxidopamina. Doença de Parkinson.

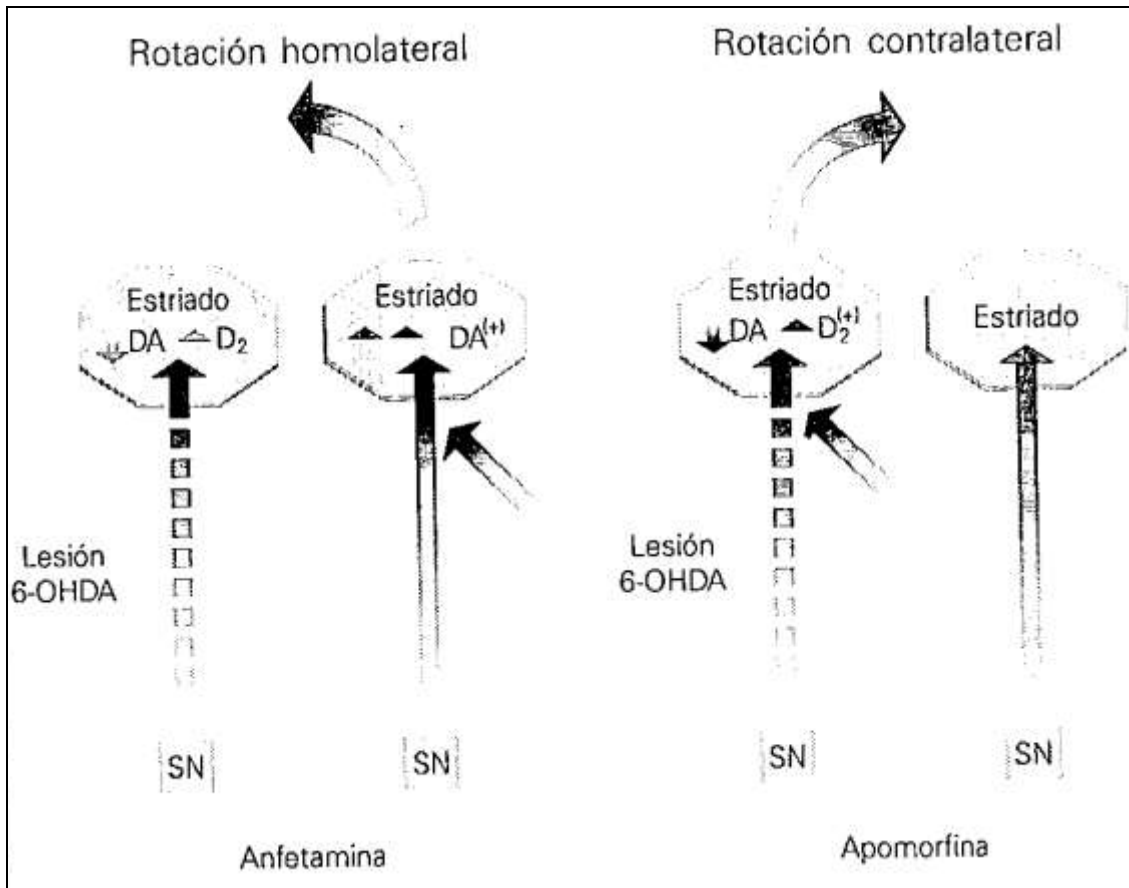
# **EXPERIMENTAL MODELS OF PARKINSON'S DISEASE**

## **SUMMARY**

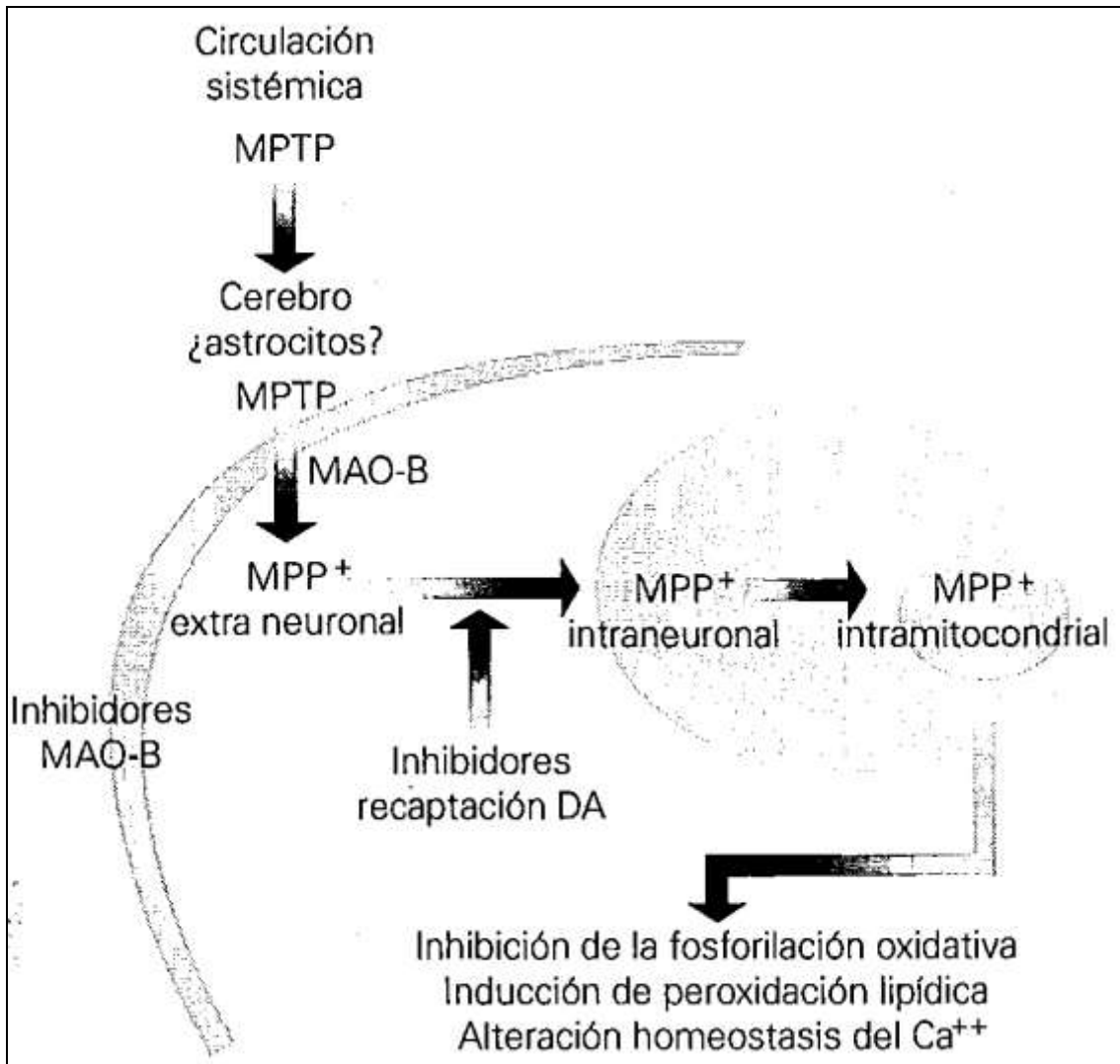
This article reviews the most useful animal models of Parkinson's disease available. Basically they include the model of unilateral nigrostriatal lesion induced by 6-hydroxydopamine (6-OHDA) in rodents and the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6, tetrahydroxyridine (MPTP) model of parkinsonism in non-human primates. The major neurochemical and histological alterations found in these two models are also analyzed. Finally, possible applications of these models of parkinsonism are also discussed.

## **KEY WORDS**

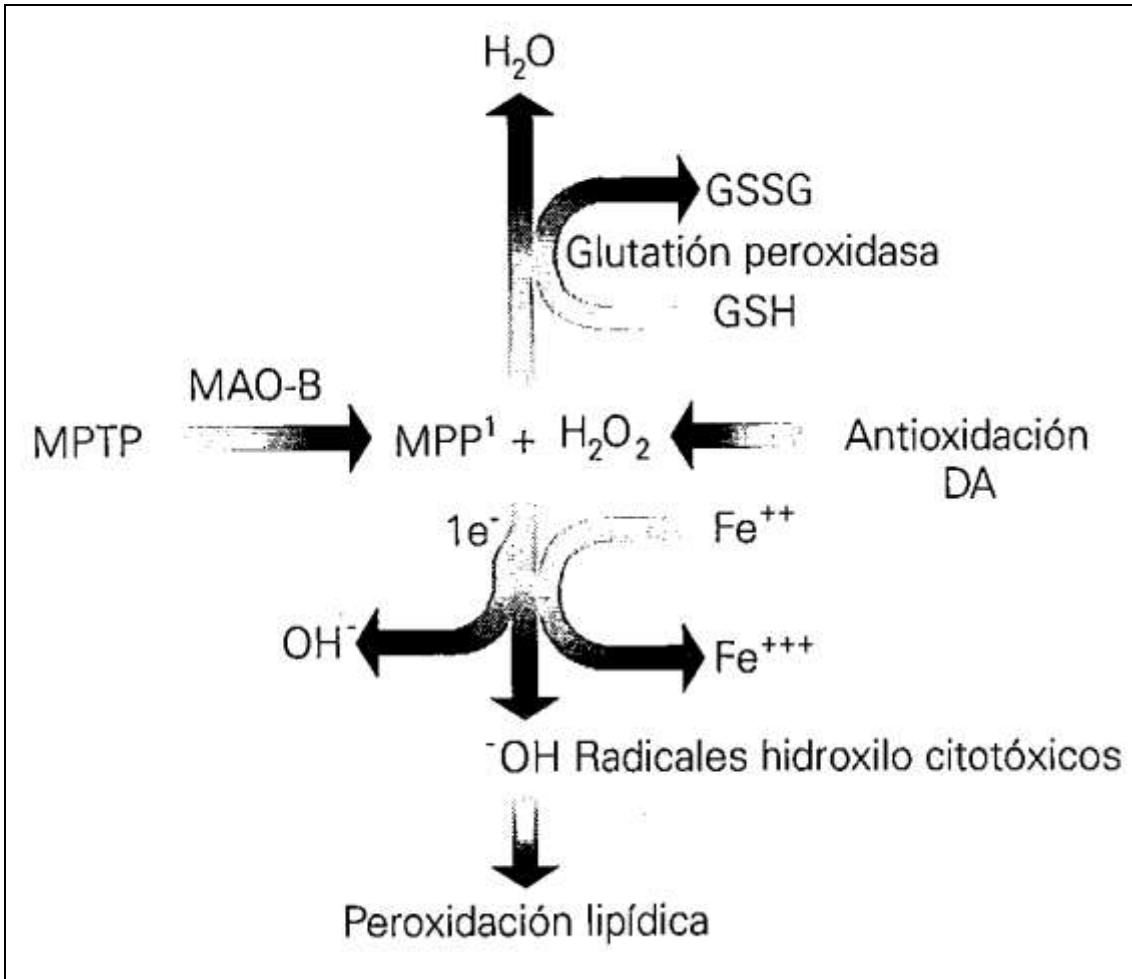
1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6, tetrahydroxyridine. 6-hydroxydopamine. Parkinson's disease.



**Figura 1**



**Figura 2**



**Figura 3**



**Tabla.** Diferencias y similitudes entre la enfermedad de Parkinson y el parkinsonismo inducido por MPTP en primates no humanos.

	<b>Enfermedad de Parkinson</b>	<b>Parkinsonismo por MPTP</b>
Sintomatología	Acinesia, rigidez, temblor de reposo	Acinesia, rigidez, raramente temblor de reposo
Respuesta de DA y agonistas de DA	Positiva	Positiva
Progresión de los síntomas	Positivo	Positivo
<b>Neuropatología</b>		
Pérdida de neuronas DA en la SNc	Sí	Sí
Cuerpos de Lewy	Sí	No
<b>Neuroquímica</b>		
Depleción DA estriado	Sí	Sí
Disminución actividad TH	Sí	Sí
Depleción DA extraestriatal	Sí	Sí
Disminución de otras aminas (serotonina, noradrenalina)	Sí	Sí
Incremento de los procesos peroxidación lipídica	Sí	Sí
Incremento de hierro	Sí	Sí
Alteración homeostasis de Ca	Sí	Sí
Alteración de los complejos I y III de la cadena respiratoria mitocondrial	Sí	Solamente complejo I
DA: dopaminérgica SNc: sustancia negra compacta		