



Artículo de Revisión

Modelos clásicos de inducción de Parkinson.

Classical models of Parkinson's induction.

Castañeda-Achutiguí Fátima¹, Tejeda-Martínez Aldo¹, Escalante-Castañeda Alejandro¹,
Sucres-Bernes Hans Alam¹, Monterrubio-Ledezma Eduardo¹, García-Lemus Raúl^{1,2*}.

¹Departamento de Farmacobiología, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara.

²Laboratorio de análisis Farmacéutico y Química Farmacéutica, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara.

Recibido: 13 de febrero de 2015

Aceptado: 02 de septiembre de 2015

Puedes encontrar este artículo en: www.uv.mx/eneurobiologia/vols/2015/13/13.html

Resumen

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo y progresivo, que se caracteriza por un conjunto de alteraciones principalmente motoras como consecuencia de la pérdida de más del 70% de neuronas dopaminérgicas en la Sustancia Nigra *pars compacta* (SNpc), aunque la etiología exacta de esta enfermedad es aún desconocida se ha demostrado su relación con estrés oxidativo comúnmente consecuente a afecciones mitocondriales, procesos neuroinflamatorios, excitotoxicidad, factores neurotróficos y disfunciones proteosomales que concluyen con muerte celular programada o apoptosis. Estos procesos bioquímicos pueden ser reproducidos selectivamente por fármacos como α -metil-para-tirosina, amfetaminas y reserpina, algunos plaguicidas como rotenona y paraquat y toxinas como 6-hidroxidopamina y MPTP; motivo por el que se han empleado para modelar esta condición patológica, con la finalidad del estudio propio de la enfermedad o el desarrollo de técnicas y moléculas que coadyuven a la terapéutica de esta. A pesar de que se han diseñado modelos genéticos para inducir esta enfermedad, no hay referencias de alguno que pueda reproducir todos los procesos fisiopatológicos y características clínicas que en este padecimiento se presentan; por lo que algunos pueden ser más aptos para el modelaje de esta patología. Uno de los más utilizados es la toxina MPTP por su alta capacidad de traspasar barreras biológicas y la elevada similitud de los efectos que produce con los que se presentan en la EP. En esta revisión condensamos las características principales de los modelos de parkinsonismo que hoy en día se emplean, para facilitar la tarea de los investigadores de este campo.

Palabras clave: Enfermedad de Parkinson, Sustancia Nigra, Modelos Farmacológicos, MPTP, Modelos Genéticos, Parkinsonismo.

Abstract

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative and progressive disorder that is characterized by a set of motor disturbances mainly due to the loss of over 70% of dopaminergic neurons in the substantia nigra *pars compacta* (SNpc), although the etiology of this disease is still unknown has shown its relationship with oxidative stress commonly consequent to mitochondrial disorders, neuroinflammatory processes, excitotoxicity, neurotrophic factors and dysfunction proteosomales concluding with programmed cell death or apoptosis. These biochemical processes can be selectively reproduced by drugs such as α -methyl-para-tyrosine, amphetamine and reserpine, as some pesticides such as rotenone and paraquat, some toxins such as MPTP and 6-hydroxydopamine; reason that have been used to model this pathological condition, with the purpose of studying the disease or the development of techniques and molecules that contribute to this therapeutic. Although genetic models are designed to induce the disease, does not exist someone who can reproduce all the pathophysiological processes and clinical characteristics are presented in this condition; so some may be more suitable for modeling this disease. One of the most used is the toxin MPTP; for its high ability to pass biological barriers and the high similarity of the effects produced with those presented in the EP. In this review we condense the main features of the usually Models of Parkinsonism to facilitate the task of researches in this field.

Keywords: Parkinson Disease, Substance Nigra, Pharmacological Models, MPTP, Genetic Models, Parkinsonism.

*Correspondencia: Departamento de Farmacobiología División de Ciencias Básicas. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Boulevard Gral. Marcelino García Barragán 1421, Olímpica, Guadalajara, Jalisco. CP 44430. Teléfono: 33 1378 5900. E-mail: glc23464@yahoo.com

Este es un artículo de libre acceso distribuido bajo los términos de la licencia de Creative Commons, (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en algún medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.



Contenido

1. [Introducción](#)
2. [Modelos basados en el uso de plaguicidas](#)
 - 2.1. [Rotenona](#)
 - 2.2. [Paraquat](#)
3. [Modelos farmacológicos](#)
 - 3.1. [Alfa-metil-tirosina](#)
 - 3.2. [Anfetamina](#)
 - 3.3. [Reserpina](#)
4. [Modelos basados en el uso de toxinas](#)
 - 4.1 [MPTP](#)
 - 4.2 [6-Hidroxidopamina](#)
5. [Modelos genéticos de inducción de Parkinson](#)
 - 5.1. [Parkina](#)
 - 5.2. [Alfa-Sinucleína](#)
 - 5.3. [DJ-1](#)
6. [Convulsiones](#)
7. [Agradecimientos](#)
8. [Conflicto de intereses](#)
9. [Referencias](#)

1. Introducción

La enfermedad de Parkinson (EP) o “parálisis agitante” como la nombró en 1817 James Parkinson, es una enfermedad neurológica degenerativa y progresiva (abiotrofia) del Sistema nervioso central (SNC) en cuyo cuadro clínico se manifiestan síntomas principalmente motores como bradicinesia, acinesia, temblor, rigidez e inestabilidad postural. El efecto que subyace a la EP es la pérdida de las neuronas dopaminérgicas en el área ventral de la Sustancia Nigra *pars compacta* (SNpc) lo que conlleva a trastornos principalmente motores. Esta sintomatología puede estar acompañada de fenómenos disautonómicos como la dificultad para realizar tareas finas, micrografía, hipotonía o disartria. Diversas líneas de evidencia señalan que en algunos casos la pérdida dopaminérgica se acompaña de deficiencias colinérgicas y de otros neurotransmisores que implican la expresión de otros síntomas no motores, principalmente en estados avanzados afectándose funciones ejecutivas, habilidades visoespaciales, memoria, lenguaje e inclusive pueden llegar a presentarse cuadros demenciales.

Aunque se desconoce su etiología exacta se proponen diversos mecanismos como causa de esta patología; algunos de estos fundamentados y de carácter principalmente ambiental y genético. Dentro de los mecanismos se incluye como factor principal el estrés oxidativo como respuesta a radicales libres y peróxidos formados principalmente en las reacciones de generación energética en las mitocondrias; gases tóxicos emitidos ambientalmente, manganeso, organofosforados, monóxido de carbono, radicales ionizantes, asbesto inclusive las infecciones virales pueden desencadenar síntomas parkinsonianos.

Dentro de otros mecanismos propuestos como etiología de la enfermedad se encuentran la disfunción mitocondrial, alteración del citoesqueleto neuronal y finalmente apoptosis como consecuencia de procesos subyacentes. Todos los mecanismos propuestos se basan en la

excitotoxicidad debido a la constante y alterada activación de los receptores para neurotransmisores de naturaleza excitadora, como el glutamato que aumenta la permeabilidad a calcio y por ende eleva las concentraciones intracelulares de este ion lo que desencadena daño y muerte celular. Hoy en día, se han desarrollado diferentes modelos experimentales de parkinsonismo in vivo a base de fármacos, pesticidas, toxinas e inclusive a partir de ingeniería genética, con el objetivo de estudiar los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad de Parkinson así como probar diferentes moléculas enfocadas al tratamiento de ésta.

2. Modelos basados en el uso de plaguicidas

Desde los años 80's, se ha estudiado la relación que hay entre la EP y la exposición a plaguicidas a través de diversos estudios epidemiológicos que relacionan el riesgo a padecer dicha enfermedad con la exposición a factores ambientales tales como sustancias que provienen de procesos industriales, el desarrollo en medios rurales y el uso de productos agroquímicos.¹ Este último punto en especial ha sido de gran importancia para los investigadores ya que al conocer parcial o totalmente el mecanismo de acción de dichos agentes se puede inducir el daño dopaminérgico que desencadena un cuadro clínico característico en los animales de experimentación empleados en estudios preclínicos.

Entre los diversos factores se ha mostrado gran interés en el uso de plaguicidas para la reproducción de modelos de parkinsonismo.^{1,2} El término plaguicida, se incluye en los biocidas y hace referencia a todas aquellas sustancias de origen natural o sintético utilizadas para exterminar, prevenir, repeler o controlar cualquier plaga u organismo no deseado; dentro de los plaguicidas se clasifican los insecticidas, herbicidas y fungicidas.¹ Uno de los insecticidas más estudiados y utilizados en modelos de parkinsonismo es la rotenona, ésta al igual que el herbicida paraquat, es selectivamente tóxica a las neuronas

dopaminérgicas nigroestriatales lo que desencadena un cuadro clínico similar al que se presenta en la EP.^{1,3}

2.1. Rotenona

La rotenona es un pesticida y piscicida orgánico que se extrae de las raíces de algunas plantas tropicales de los géneros *Lonchocarpus* y *Derris*. Presenta una alta liposolubilidad por lo que se facilita su transporte a través de barreras biológicas y membranas celulares.⁴ El primer uso de la rotenona como agente causal de parkinsonismo fue en el año de 1985 cuando Heikkilä inyectó intracerebralmente este inhibidor del complejo mitocondrial I y demostró el daño neuronal dopaminérgico que esta podía causar a una concentración aproximada de 5mM y que además era 500,000 veces superior a su concentración máxima inhibitoria 50 (IC₅₀) que equivale a 10nM.⁵ Sin embargo resultados similares podrían haber sido obtenidos prácticamente por cualquier toxina mitocondrial. Este hecho abrió un nuevo campo de investigación ya que se relacionó la EP con defectos mitocondriales sistémicos, por lo que diversos grupos de experimentación comenzaron a trabajar con la administración sistémica de toxinas mitocondriales. Posteriormente, en el año de 1997 Ferrante indicó que la administración de rotenona (10-18 mg/kg/día) produjo lesiones cerebrales inespecíficas y toxicidad periférica.⁵ En contraste, Bertabet en el año 2000 valoró experimentalmente la inhibición del complejo I, a un nivel similar a la que se reportaba en pacientes con la EP (2-3 mg/Kg/día). Dicha dosis produjo degeneración nigroestriatal altamente selectiva y aún más sorprendente fue que las ratas tratadas con rotenona desarrollaron inclusiones citoplasmáticas α -sinucleína positivas, similares a los cuerpos de Lewy en neuronas dopaminérgicas de la Sustancia Nigra (SN).^{5,6} Aunque en un inicio el uso de la rotenona en modelos experimentales se enfocó principalmente en probar la teoría de la relación entre la enfermedad y la disfunción mitocondrial; más tarde se utilizó

en modelos *in vivo* para representar la patología y probar nuevos fármacos propuestos para tratar la EP. Esto como consecuencia del cuadro clínico tan similar al de esta enfermedad, que se presentaba posterior a la administración de dicho plaguicida en los sujetos de experimentación. Dentro de estas características que comparte con la EP se encuentra la acumulación y agregación de endógenos como α -sinucleína, α -sinucleína poliubiquitinizada, cuerpos y neuritas de Lewy, déficit de comportamiento sensible a apomorfina, activación de microglia temprana y sostenida, modificación oxidativa y translocación de DJ-1, acumulación de hierro en la SN a través de un mecanismo que implica la participación de transferrina y su receptor 2, déficit en las funciones gastrointestinales ocasionados por desórdenes del α -sinucleína en neuronas entéricas; cuya acumulación en duodeno e íleon ocasionan la gastroparesis característica de la enfermedad.⁷ Se ha reportado que la administración sistémica de rotenona puede presentar además otras afecciones características de la EP; como la patología de la retina, pérdida de testosterona y algunos trastornos de sueño.⁵ Posterior a los estudios en ratas, el modelo se ha podido reproducir exitosamente en ratones, insectos y nematodos como *Drosophila* y *C. elegans*.^{5,7,8}

Aunque aún se discute si la rotenona presenta o no, toxicidad selectiva ante las neuronas dopaminérgicas, estudios recientes demuestran estar a favor acerca de dicha selectividad, además de que se ha reportado que esta toxicidad selectiva se ve potenciada en ratones por la inhibición del gen NDUFS4 cuyo nombre oficial es "NADH deshidrogenasa (ubiquinona) proteína Fe-S 4".⁹ Este gen codifica para el complejo mitocondrial I que como se mencionó anteriormente, es inhibido por la rotenona siendo éste el principal mecanismo de acción sobre las neuronas dopaminérgicas, aunque no es el único, puesto que estudios recientes demuestran que la inhibición del complejo I no es una causa directa de la muerte de

neuronas dopaminérgicas. Existen otros mecanismos subyacentes que se han reportado para rotenona, como la despolimerización de los microtúbulos y la

acumulación de especies reactivas de dopamina y especies reactivas de oxígeno (ROS) en cultivos de mesencéfalo¹⁰ (Figura 1).

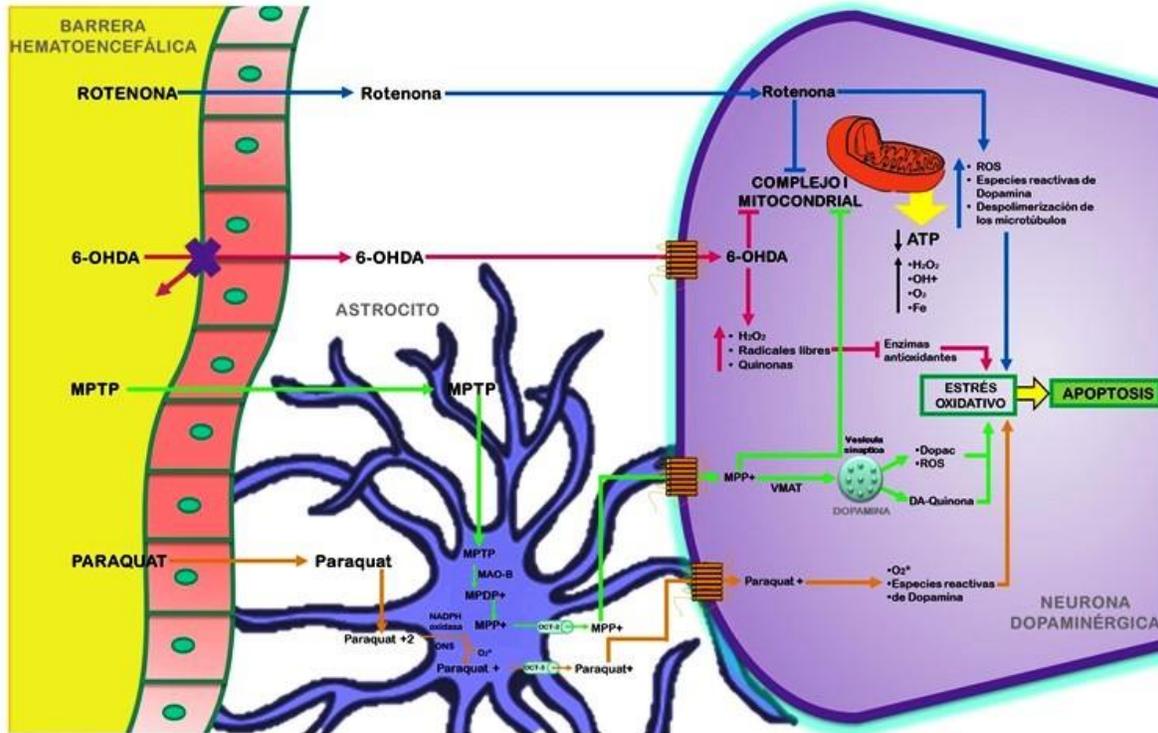


Figura 1. Mecanismo fisiopatológico de los principales agentes neurotóxicos empleados en modelos de parkinsonismo.^{9,10,18,42-44,62,63}

Además de la autofagia que se presenta como una importante respuesta celular ante el estrés oxidativo que se desencadena.¹¹

Entre los modelos que hoy se manejan para representar la EP, el de rotenona es uno de los que más han destacado, principalmente por tres puntos:

1) Reproduce la mayor parte de los trastornos motores y las características histopatológicas de la EP, incluso cuerpos de Lewy y algunas afecciones asociadas al α -sinucleína.^{11,4}

2) La rotenona y otros pesticidas son potentes inhibidores de la respiración mitocondrial y asociados con una alta incidencia de parkinsonismo esporádico entre la población principalmente de zonas rurales.¹

3) Presenta alta liposolubilidad por lo que atraviesa fácilmente barreras biológicas

sin depender de transportadores; aunque en ocasiones estos pueden favorecer dicho proceso.¹⁰

Entre los inconvenientes de rotenona como agente causal de parkinsonismo se encuentra su alta fotorreactividad por lo que tiende a degradarse al contacto con fotones pero su principal desventaja es la baja hidrosolubilidad que presenta, lo que dificulta la elección del vehículo apropiado así como de la adecuada vía de administración que ocasione el efecto deseado y un índice de mortalidad bajo en los especímenes tratados.¹²

Actualmente existen variantes en este modelo de parkinsonismo. Se trabaja tanto en modelos *in vivo* como en modelos *in vitro*. La vía de administración en modelos *in vivo* puede ser subcutánea, oral, e incluso intracerebral con dosis que van desde

0.2mg/kg hasta 100mg/kg aspecto que varía según la vía de administración o tipo de tratamiento, llámese crónico u agudo.¹³ Este modelo se reproduce generalmente en ratas Sprague-Dawley, ratones de la cepa C57Bl/6j y C57Bl/6 o insectos del género *Drosophila*.^{5,14} Es importante mencionar que generalmente este insecticida se disuelve en compuestos polares con la ayuda de compuestos surfactantes como la carboximetilcelulosa (CMC), o el aceite de ricino debido a la alta lipofilicidad que presenta. La solubilización con dimetilsulfóxido (DMSO) puede minimizar el uso de surfactante o inclusive impedirlo, todo depende de la cantidad de pesticida que se desee solubilizar.^{6,11}

2.2. Paraquat

Paraquat (dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo), es un herbicida de nitrógeno cuaternario, tipo bipyridilo ampliamente utilizado en la agricultura para el control de maleza.¹⁵ En su introducción al mercado, en

los años 60's no se tenía el suficiente conocimiento sobre el alto índice de toxicidad que puede presentar hacia la raza humana; hoy en día este aspecto es más estudiado y por ende más controlado. Su relación etiológica con la EP es relativamente nueva; ya que aunque desde los años 80's se tenían indicios sobre intoxicaciones agudas y muertes ocasionadas por paraquat, se desconocía su relación con esta enfermedad; hasta que se comparó la similitud estructural que compartía con MPP⁺ (Figura 2) y se dedujo que posiblemente compartían la misma farmacodinamia.¹⁵ Hasta el 2010 solo se tienen reportados 95 casos que relacionan el paraquat como agente causal de la EP, debido a que su efecto tóxico sistémico ocurre de manera espontánea, incluso hasta llegar a la muerte, lo que impide que se evidencie el parkinsonismo.¹⁶ Ésta ha sido la causa por la que los estudios modelados con paraquat se utilizan con mayor frecuencia para fines de investigación propios de la molécula y con menor frecuencia para inducir parkinsonismo.

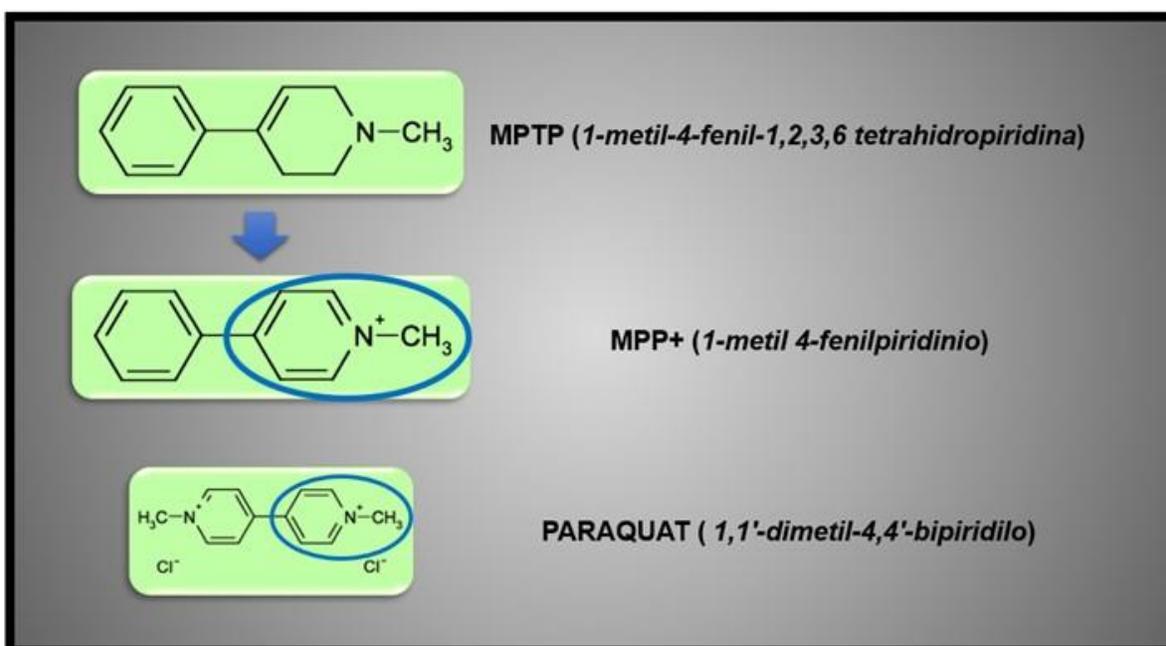


Figura 2. Comparación estructural del herbicida paraquat con MPP+, metabolito de la toxina MPT

La primer publicación que menciona la posible relación de paraquat con la EP, fue realizada por Barbaeu en 1984, en un artículo de revisión sobre las estrategias de investigación del Parkinson; en el relacionaba la patogénesis del parkinsonismo con la embriaguez, el manganeso, el MPTP y algunos pesticidas.¹⁷

Estudios recientes han demostrado experimentalmente que el paraquat produce cambios subcelulares ligados a la EP, aumento en la producción de ROS, agregaciones de alfa-sinucleína o cuerpos de Lewy y lesiones neuroselectivas de la SN; lo que ocasiona el cuadro clínico característico de la EP.^{17,10}

El mecanismo fisiopatológico más recientemente propuesto se asemeja de manera parcial al del catión MPP⁺, tal como lo propuso Barbaeu en 1984. Se propone que paraquat en su estado de catión divalente (paraquat⁺⁺) puede someterse a la vía redox en microglia a través de diaforasas celulares como la NADPH oxidasa y la Óxido Nítrico Sintasa (NOS), lo que da como resultado un catión monovalente (paraquat⁺) acompañado de la producción de superóxido que conlleva a un estrés oxidativo y por ende a una citotoxicidad (Figura 1). Pero este no es el principal mecanismo que conlleva a las afecciones dopaminérgicas, pues en el mismo trabajo se propone que este catión monovalente es reconocido por el Transportador a Dopamina (TAD) lo que provoca una acumulación en las neuronas dopaminérgicas y esto a su vez, la generación de superóxido y especies reactivas de dopamina ocasionado por el establecimiento de nuevos ciclos redox intracelulares lo que conlleva a la neurotoxicidad dopaminérgica.¹⁰ Además, este catión monovalente es también un sustrato para el transportador extraneuronal de monoaminas o transportador de cationes orgánicos un transportador bidireccional que está altamente expresado en astrocitos y neuronas GABAérgicas en las regiones nigroestriatales.¹⁸ En la propuesta de dicho mecanismo se concluye que ambos transportes coadyuvan al daño nigroestriatal,

además de que podría existir una posible interacción entre las células dopaminérgicas y las no dopaminérgicas debido a la naturaleza de ambos transportadores; lo que altera la función y viabilidad de la vía nigroestriatal.^{10,16}

Actualmente los modelos de parkinsonismo con paraquat, se realizan mayormente con su catión divalente (paraquat⁺⁺) aunque también se realizan con su forma estable (paraquat). Las investigaciones y modelados con paraquat incluyen estudios *in vitro* con células de rata así como modelos *in vivo* con insectos del género *Drosophila*, ratones de la cepa C57Bl/6 e inclusive estudios epidemiológicos relacionados a la salud ocupacional en humanos.^{19,20,22} Las concentraciones manejadas en estudios *in vitro* van desde 30µM hasta 10mM para inducir parkinsonismo, en estudios *in vivo* se manejan dosis de 0.4 mg/Kg hasta 60mg/kg, esto varía según de la vía de administración que se maneje (se reportan por vía oral e intraperitoneal).¹⁹ La DL₅₀ en humanos es aproximadamente de 3-5mg/kg y de 290 a 360 mg/kg en ratones.²⁰

3. Modelos farmacológicos

Los modelos farmacológicos se caracterizan por alterar o modificar las vías metabólicas claves e importantes en el desarrollo y la homeostasis neuronal, esto permite el modelado de parkinsonismo en diversas especies de experimentación, principalmente roedores.²¹

3.1. Alfa-metil-p-tirosina

El alfa-metil-p-tirosina es un inhibidor de la enzima tirosina hidroxilasa. Este fármaco no endógeno participa en la ruta de biosíntesis de catecolaminas, cuya actividad enzimática es regulada a través de la fosforilación de residuos de diferentes sitios de serina. Esta droga es muy similar al efecto que ejerce la reserpina, debido a que la disminución en los niveles de dopamina es transitoria sin provocar neurodegeneración de las células dopaminérgicas de la vía nigroestriatal.

Existen muchos trabajos experimentales en los que la α -metil-p-tirosina se utiliza en combinación con reserpina para potenciar el efecto de agotamiento de la dopamina.²³

3.2. Anfetamina

Las anfetaminas son ampliamente usadas como psicoestimulantes. Además de sus propiedades adictivas, los derivados de la anfetamina tales como p-cloroanfetamina (PCA), metanfetamina, 3,4-metilendioximetanfetamina (MDMA) y fenfluramina también son altamente neurotóxicos. Este compuesto en su forma pura posee el aspecto de un polvo blanco, cristalino, inodoro, de sabor amargo y con características muy solubles. Además posee la peculiaridad de atravesar la barrera hematoencefálica.²³

Entre los efectos de la metanfetamina se encuentra sobre todo un estado creciente de agotamiento psicológico, físico y cognitivo dado por el bloqueo constante de las señales somáticas como el sueño, el hambre que advierten sobre el deterioro funcional progresivo. En estos casos, una vez que la droga desaparece totalmente del organismo, pueden presentarse además estados de gran agitación psicomotriz asociados con conductas violentas y delirios de persecución muy semejantes a los que aparecen en los cuadros de esquizofrenia paranoide.^{24,25}

En el contexto de los modelos utilizados para inducir parkinsonismo, la metanfetamina se usa con más frecuencia que otros derivados de la anfetamina.²⁶

En este sentido, se evidenció que los pacientes con trastornos debido al uso de metanfetaminas poseían un 76% de probabilidades de desarrollar la EP, en comparación con aquellas personas que no usaban esta droga con frecuencia. Aunque en el estudio puntualizan que este riesgo solo ocurre en las personas que consumen sobredosis de metanfetaminas, no es así en los pacientes que la consumen con fines médicos como parte de un tratamiento debidamente estructurado.²⁶

El mecanismo por el cual la metanfetamina induce en la neurotoxicidad *in vivo* aún es controvertido. Existen dos mecanismos propuestos para tratar de explicar los efectos de las metanfetaminas como modelo de inducción de parkinsonismo. Un mecanismo propuesto está relacionado con el aumento dramático en los niveles de dopamina en el citosol, lo que resulta en estrés oxidativo por el exceso de la producción de especies reactivas de este neurotransmisor.²⁷⁻²⁹

3.3. Reserpina

Trabajos realizados por Carlsson y cols., a finales de la década de los cincuenta, demostraron que la administración sistémica de reserpina causaba una disminución en los niveles de catecolaminas, como dopamina y noradrenalina al bloquear el almacenamiento vesicular. Esto induce la aparición de síntomas heterogéneos, dentro de los cuales destacan los síntomas motores que son similares a los que se presentan en la EP, como temblor, rigidez, acinesia y alteraciones posturales y de la marcha, así mismo, se observa un efecto sedante en animales poco tiempo después de la administración de reserpina, acompañado por signos de ptosis palpebral, hipocinesia, rigidez, catatonía e inmovilidad.³⁰⁻³²

Estudios realizados por Heeringa y Abercrombie en 1995, demostraron que dos horas después de la administración de reserpina se observa una disminución en los niveles de dopamina del 85% en la SNpc y de los niveles estriatales de dopamina pueden alcanzar hasta un 95% de disminución.³³ También se ha demostrado que la reserpina provoca un aumento en los niveles de aminoácidos excitatorios en los ganglios basales.³⁴ Robledo en 1991, demostró un aumento del 50% de los niveles extracelulares de glutamato después de la administración de reserpina en el núcleo subtalámico y en los ganglios basales.^{35,36}

Este modelo ha servido para evaluar la efectividad de distintos tratamientos y el efecto que produce la pérdida del aporte de

dopamina en el cuerpo estriado. También se ha utilizado para investigar los efectos terapéuticos de la levodopa y otros agonistas dopaminérgicos, por lo que este modelo fundamenta el estudio de la patología de EP.³⁷

4. Modelos basados en el uso de toxinas

4.1. MPTP

El descubrimiento del MPTP se produjo en 1982 en California, cuando un grupo de adictos a drogas desarrollaron un síndrome rígido-akinético grave de inicio subagudo que mejoraba con levodopa y agonistas dopaminérgicos. Las investigaciones posteriores pusieron de manifiesto que este cuadro clínico era producido por la inyección sistémica de un análogo sintético de la heroína, la 1-metil-4-fenilpropionoxipiperidina (MPPP), contaminado con un subproducto, el MPTP.^{39,40} La toxicidad del MPTP quedó demostrada en los estudios de Langston y sus colaboradores en siete jóvenes heroínomanos de California que, tras la autoadministración de MPTP, presentaron la sintomatología parkinsoniana de forma aguda, con alucinaciones, somnolencia y espasmos en las extremidades. Tras la administración crónica presentaban alteraciones motoras como temblor de reposo en las extremidades, rigidez, lentitud en los movimientos y micrografía.⁴¹

Los mecanismos etiopatogénicos implicados en la degeneración dopaminérgica inducida por MPTP son parecidos a los que se han postulado para los pacientes con la EP. El MPTP es una molécula lipofílica con gran capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica. Una vez en el cerebro es captada por las células gliales y por acción de la enzima monoamino oxidasa B (MAO-B)⁴² se transforma en el metabolito activo 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺), el cual es captado por las células dopaminérgicas a través del TAD.⁴³ Una vez en el citoplasma de las células dopaminérgicas puede almacenarse en las vesículas mediante la

acción del transportador vesicular de monoaminas (VMAT), o en las mitocondrias donde inhibe el complejo I de la cadena mitocondrial transportadora de electrones, lo que provoca una disminución en la producción de ATP y un aumento en 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 oxidativo que se genera.⁴⁴

Por lo anterior, el MPTP se ha utilizado para inducir una degeneración selectiva de las neuronas dopaminérgicas en la SN, por lo que se utiliza para modelar la EP en murinos y primates por denervación de la vía nigroestriatal. Sin embargo, una limitación inicial de este modelo es que al principio no se observaban los característicos cuerpos de Lewy, que son inclusiones de proteínas características de la enfermedad, aunque recientemente se ha visto que la infusión continua de dosis más bajas de MPTP durante un largo período de tiempo sí logra reproducir las marcas histopatológicas de la EP.⁴⁵

La neurotoxicidad del MPTP ha sido demostrada en diversas especies animales, entre los que destacan macacos, gatos y ratones (C57 negro).⁴⁶ Los efectos del MPTP en los ratones varían con la edad del animal, la dosis, la vía metabólica, el número y la frecuencia de las inyecciones. Así, se ha demostrado que el daño causado por MPTP en a nivel mitocondrial se incrementa con la edad del ratón⁴⁷ y que los cerebros de ratones más viejos acumulan más MPP⁺ que los de los animales jóvenes, lo que puede contribuir al aumento de la sensibilidad a la toxicidad por MPTP.⁴⁸

También hay una gran variabilidad en la sensibilidad al tratamiento con MPTP, lo que depende de la cepa de ratón intoxicada. La cepa C57Bl/6 es la más sensible a la intoxicación sistémica por MPTP, ya que en esta alcanza el sistema nigroestriatal de manera mucho más selectiva que en otras cepas murinas.⁴⁹ Esta variabilidad en la sensibilidad al MPTP se atribuye a diferencias genéticas.⁵⁰

De los numerosos estudios con MPTP en ratones como modelo experimental de la EP, algunos se han basado en la administración subcutánea o intraperitoneal de una dosis de 10-20 mg/kg de MPTP en un intento de crear un modelo presintomático para el estudio de los mecanismos compensatorios que suceden a la intoxicación.⁵⁰ Sin embargo, los dos modelos más utilizados en la actualidad son los denominados *agudo* y *crónico* por inyección intraperitoneal. En el modelo agudo

se administran cuatro dosis de MPTP (20 mg/kg) en el mismo día y el animal se sacrifica al cabo de siete días.^{51,52} En el modelo crónico, podemos diferenciar dos pautas: i) administración de una sola dosis diaria de MPTP (30 mg/kg) durante cinco días consecutivos y sacrificio del animal a los siete días^{53,54} (Figura 3), y ii) administración de una dosis al día de MPTP (4 mg/kg) durante 20 días y sacrificio siete días después de la última inyección.^{55,56}

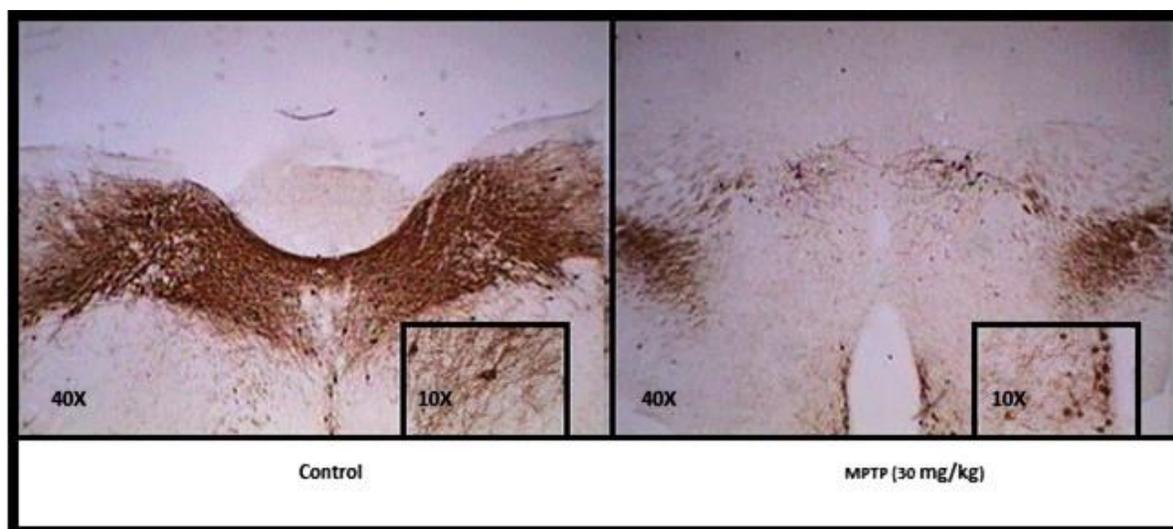


Figura 3. Efecto de la administración intraperitoneal de MPTP en ratones de la cepa C57Bl/6. En el grupo control se observa una mayor inmunorreactividad a Tirosina Hidroxilasa en Sustancia Nigra, lo que se traduce como una mayor densidad de neuronas dopaminérgicas en comparación con el que recibió 30mg/Kg de MPTP por 5 días, en el que la inmunorreactividad disminuye cuantitativamente más del 70%.

4.2. 6-Hidroxidopamina

Pocos años después de la publicación del modelo de reserpina en 1960 en la investigación de la EP, la degeneración nigroestriatal fue reconocida como un factor primario de esta patología. En este contexto, surgieron varios modelos neurotóxicos con el objetivo de tratar de reproducir la degeneración de las neuronas nigroestriatales observada en la EP. En 1968 Thoenen y Tranzer descubrieron una neurotoxina capaz de producir degeneración de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales, esta droga es el análogo de la dopamina, la 6-hidroxidopamina (6-OHDA).⁵⁷ Inicialmente, se sabía que la 6-OHDA causa depleción de noradrenalina en el corazón de ratón.^{58,59}

Posteriormente se descubrió que la 6-OHDA es capaz de provocar degeneración de neuronas dopaminérgicas como noradrenérgicas y causar alteraciones en las vías catecolaminérgicas del sistema nervioso central y prefiérico. Estos tipos neuronales son particularmente vulnerables a la 6-OHDA debido a que los transportadores de membrana de estos tipos celulares tienen alta afinidad para esta molécula.^{60,61}

El ingreso de la 6-OHDA a la célula esta mediado por el TAD, el cual es un simportador dependiente del gradiente de concentración de Na^+ generado por la ATPasa de Na^+/K^+ y requiere de la adición de dos iones Na^+ en el dominio extracelular para que la catecolamina (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 a la célula de Na⁺ y de la 6-OHDA.⁶²

Si bien, la 6-OHDA inhibe la cadena respiratoria mitocondrial, los principales daños se deben a la elevada producción de H₂O₂, radicales libres y quinonas que son producto de su metabolización, lo que provoca un rápido descenso en enzimas antioxidantes y en conjunto, daño en la estructura y metabolismo celular.⁶³

Aunque, a diferencia del MPTP, la rotenona o el paraquat, la 6-OHDA puede administrarse por inyección sistémica, esta vía no reproduce la lesión nigroestriatal de la EP porque la 6-OHDA no atraviesa la barrera hematoencefálica ni se acumula en el parénquima cerebral.⁶⁴ Por tanto, la 6-OHDA debe inyectarse intracerebralmente por estereotaxia en el haz prosencefálico medial o directamente en el estriado o en la SNpc.^{65,63}

Cuando esta droga es administrada por vía sistémica se ha observado que destruye las terminales simpáticas adrenérgicas y a dosis altas, los cuerpos neuronales; pero carece de acción tóxica sobre el sistema nervioso central. En contraste la inyección intracerebral por vía estereotáxica de 6-OHDA produce una destrucción selectiva de neuronas dopaminérgicas nigrales, de las terminales estriatales y una depleción en los niveles de DA, serotonina, encefalina y sustancia P estriatales. La degeneración neuronal afecta por igual tanto a las neuronas dopaminérgicas de la SNpc que proyectan al estriado como a las del área tegmental ventral que forman parte del sistema mesolímbico.⁶⁰

Por otro lado, se ha demostrado que la inyección intracerebral de 6-OHDA en la SNpc o en el haz prosencefálico medial, las neuronas dopaminérgicas comienzan a morir en las 24 horas siguientes, sin que muestren una morfología apoptótica.⁶⁶ La máxima reducción de las concentraciones de dopamina se produce entre el tercer y el cuarto día tras la inyección.⁶⁷ Cuando se inyecta en el estriado, la 6-OHDA produce

una degeneración retrógrada del sistema nigroestriatal más prolongada, que se mantiene entre una y tres semanas tras la lesión y las neuronas degeneradas presentan una morfología variada con características de apoptosis.⁶⁸⁻⁷⁰

Desde el punto de vista conductual, los animales con lesión unilateral de la SN, inducida por inyección directa de 6-OHDA en el haz nigroestriado o en la SN, más la administración sistémica de amfetamina o apomorfina, presentan un efecto rotatorio asimétrico; esta rotación puede ser ipsilateral, cuando se administran sustancias que incrementan la liberación de dopamina (amfetamina) o contralateral cuando se administran agonistas dopaminérgicos (apomorfina). Esta conducta rotatoria es debida al desequilibrio que existe entre el contenido de dopamina en el estriado homolateral y contralateral a la lesión dopaminérgica.⁴⁵

La lesión unilateral de la SN también induce cambios neuroquímicos y electrofisiológicos en el sistema nigroestriado que intentan compensar el déficit de dopamina inducido por la pérdida de neuronas dopaminérgicas. Se ha descrito una inducción y activación de tirosina hidroxilasa (enzima limitante de la síntesis de catecolaminas) en las neuronas dopaminérgicas todavía funcionales, aumento de la cantidad de dopamina liberada en el estriado por las terminales dopaminérgicas existentes y un aumento en el número de receptores dopaminérgicos estriatales postsinápticos (*up regulation*). Este aumento aparece únicamente cuando la pérdida de neuronas dopaminérgicas es superior al 90% y tiene lugar al cabo de 4 semanas de haberse producido la denervación dopaminérgica. 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 D₂. Sin embargo, aunque algunos cambios neuroquímicos son ya evidentes con lesiones dopaminérgicas parciales la actividad de las neuronas

dopaminérgicas de la SN únicamente incrementa cuando la depleción de DA estriatal es superior al 96%. En estos casos la frecuencia de descarga de las neuronas dopaminérgicas de la SN se incrementa, pero no es suficiente para compensar el déficit de DA.⁴⁵

Los animales con lesión unilateral en SN, 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 apomorfina. La rotación contralateral inducida por apomorfina u otros agonistas dopaminérgicos, es debida al aumento 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 incrementar la liberación de dopamina en las terminales presinápticas incrementa la concentración de DA únicamente en estriado contralateral a la lesión, produciéndose un desequilibrio funcional a favor del estriado contralateral.⁷¹ Una ventaja de este modelo unilateral de lesión en SN, es que se produce un síndrome motor asimétrico y una conducta rotacional cuantificable en respuesta a la administración de drogas que provocan la liberación de dopamina o directamente activan los receptores para la dopamina (D-anfetamina y apomorfina). Una de las principales ventajas de este modelo es su relativa especificidad para lesionar neuronas dopaminérgicas y la facilidad de medir conductualmente el grado de la lesión, por lo que tiene características próximas a la EP.²⁴

5. Modelos genéticos de inducción de Parkinson

Existen tres tipos de modelos genéticos para la inducción de Parkinson. El primero se basa en la delección de los genes que se encargan del desarrollo y mantenimiento de las neuronas dopaminérgicas. El otro tipo, resulta de inducir o silenciar la expresión de genes relacionados con las formas familiares de la EP. El último tipo resulta de la

sobreexpresión de proteínas mutadas principalmente en la SN.^{76,77,81,89}

Los modelos de inducción de Parkinson que afectan el desarrollo de las neuronas dopaminérgicas se caracterizan por la pérdida gradual, además, diversas evidencias experimentales, han demostrado que en los ratones de la cepa afaquia existen mutaciones espontaneas en el gen que codifica el factor de transcripción Pitx3. En primera instancia se ha demostrado que estas mutaciones provocan alteraciones en el desarrollo del cristalino lo que causa la pérdida de la vista del ratón. Posteriormente se descubrió que esta mutación provocaba pérdida de las neuronas dopaminérgicas en la SN, después del nacimiento caracterizada por un déficit motor, que mejoraba después de la administración de levodopa. Este modelo, resulta de gran interés para estudiar los factores asociados a la sobrevivencia de las neuronas dopaminérgicas o a la respuesta a tratamientos farmacológicos sintomáticos.^{72,73}

Otro modelo de inducción de Parkinson, resulta del silenciamiento del gen *Engrailed* (*En1*), el cual se expresa en neuronas dopaminérgicas de la SN y está asociado a la sobrevivencia y desarrollo de estas neuronas. Los ratones *En1* +/- presentan una degeneración progresiva de las neuronas dopaminérgicas de la SN, entre las 8 y 24 semanas después del nacimiento, además presentan un comportamiento anhedónico y déficits motores.⁷⁴

Dentro de los modelos genéticos relacionados con genes implicados en la EP de tipo familiar se encuentran la alfa-sinucleína, DJ-1 y parkina, en las que se han descrito múltiples polimorfismos que contribuyen a la aparición de síntomas característicos de la EP.⁷⁴

5.1. Parkina

Se sabe que las primeras mutaciones de este gen se describieron en familias japonesas con un parkinsonismo autosómico recesivo. Los estudios posteriores demostraron que la mutación de este gen es la causa más

frecuente de parkinsonismo de inicio temprano. La parkina es una ubiquitina ligasa que marca sus sustratos para su degradación proteosomal. La mayoría de las mutaciones provocan una pérdida funcional de la enzima ligasa, esto afecta la ubiquitinación y degradación de las proteínas.⁷⁵ También se ha reportado que los ratones deficientes en parkina presentan una densidad neuronal dopaminérgica normal tanto al nacimiento como en la etapa adulta, aunque se creía que se reproducirían las alteraciones motoras y neurológicas del parkinsonismo juvenil. Sin embargo, estos ratones no presentan sistemáticamente déficits en su función neurológica, emocional, de aprendizaje o de memoria que puedan asemejarse al parkinsonismo. Además presentan un aumento en la concentración de dopamina en el estriado y se ha demostrado en estos ratones, una disfunción mitocondrial y una mayor sensibilidad al estrés oxidativo, por lo que este modelo ha servido para entender la interacción entre parkina, estrés oxidativo y la función mitocondrial.⁷⁶

No se han encontrado alteraciones motoras (más allá de las que corresponden a la variabilidad individual) y, en el terreno neuroquímico, no hay depleción dopaminérgica, ni pérdida neuronal en la SNpc. Por tanto, los ratones deficientes en parkina solo serían un modelo útil para preguntas muy concretas.^{75,76}

5.2. Alfa-Sinucleína

La α -sinucleína es una proteína de 140 aminoácidos, se expresa en diferentes regiones cerebrales (neocorteza, hipocampo, sustancia negra, tálamo y cerebelo) presente principalmente en las terminales presinápticas. Mutaciones de α -sinucleína causan una forma rara de EP autosómica dominante y SNCA fue el primer gen vinculado a EP familiar. Tres mutaciones puntuales relacionadas con la EP (A30P, A53T y E46K) se han identificado hasta el momento. La duplicación o triplicación del gen pueden causar la EP, así, lo que sugiere

que el nivel de expresión de la proteína es también un factor causal de la enfermedad.⁷⁷

La función de esta proteína hasta la fecha es aún desconocida, aunque estudios *in vivo* han demostrado que la α -sinucleína está relacionada con la función de las vesículas sinápticas en la liberación de dopamina. Aunque es una proteína fundamentalmente neuronal, también se encuentra en células gliales. En condiciones patológicas se agrega y forma fibrillas insolubles que se integran en los cuerpos de Lewy, cuya presencia se asocia a la neurodegeneración de las células dopaminérgicas lo que constituye un marcador biológico de la EP. Los cuerpos de Lewy consisten en inclusiones redondeadas eosinófilas que contienen un centro de α -sinucleína agregada, junto a otras proteínas y un área de fibras radiadas. El patrón de distribución de estas estructuras se correlaciona con la severidad de la neurodegeneración. Sin embargo, no todas las formas de EP contienen cuerpos de Lewy.⁷⁸

Se han creado diferentes líneas de ratones *knock-out* para alfa-sinucleína que han conducido a una variedad de anormalidades en el cerebro y la médula espinal, inclusive anormalidades mitocondriales, gliosis, pérdida de neuronas motoras, la formación de agregados de alfa-sinucleína y algunas anomalías funcionales en el sistema nigroestriatal, pero no ha habido ningún informe consistente de la pérdida de neuronas dopaminérgicas de SNpc. Del mismo modo, la expresión de truncada de α -sinucleína reduce los niveles de DA, aunque no se observa un efecto sobre las neuronas de la sustancia negra.⁷⁹

Por otro lado, el uso de promotor para Thy-1, que impulsa la expresión de tipo salvaje de α -sinucleína en las neuronas corticales y subcorticales, así como en SNpc, conduce a la inclusión de α -sinucleína en el bulbo olfatorio, SNpc y locus coeruleus. También se detectó una disminución dependiente del tiempo en los niveles estriatales de DA, observándose también una reducción en la expresión de TH en el cuerpo estriado junto con aumento de la

susceptibilidad a la toxicidad del MPTP, en este punto se han obtenido numerosas líneas transgénicas murinas que sobreexpresan la variante mutante humana de la α -sinucleína (mutación A30P) presentan una alta vulnerabilidad dopaminérgica a la intoxicación con MPTP.⁸⁰ Sin embargo, la sobreexpresión de la variante A53T no incrementa la sensibilidad de las neuronas dopaminérgicas de la SNpc al MPTP.⁸¹

Los efectos deletéreos de la sobreexpresión de α -sinucleína mutante parecen depender de la ganancia funcional de la proteína; mientras que la pérdida de α -sinucleína parece tener efectos mínimos sobre el desarrollo. Como ya se mencionó, basta con que exista una sobreexpresión de α -sinucleína normal para que se produzca la EP.⁸² El metabolismo aberrante de la α -sinucleína silvestre podría ser la causa de la pérdida de las células dopaminérgicas en los pacientes que tienen la forma no-familiar de la EP.⁸²

Estudios en modelos experimentales y en el tejido cerebral de pacientes con EP sugieren que la polimerización anormal de la α -sinucleína o formación de filamentos y posteriormente agregados, pueden alterar la función de las neuronas, los astrocitos y los oligodendrocitos. Además, estas inclusiones, especialmente si son de gran tamaño, potencialmente pueden alterar en forma directa el tráfico intracelular u otras funciones, lo que favorece la muerte celular por otros tipos de estrés.⁸³

En modelos experimentales de EP, la sobre expresión de α -sinucleína puede matar en forma selectiva a neuronas dopaminérgicas. Estudios posteriores en los que se maneja una transfección viral de α -sinucleína o de algunas de sus variantes mutantes han mostrado que las neuronas dopaminérgicas son considerablemente más vulnerables que las neuronas no dopaminérgicas en la SN.⁸⁴ La selectividad de la toxicidad para las neuronas dopaminérgicas ha recibido diversas explicaciones. Varios grupos plantean que los oligómeros y protofibrillas de α -sinucleína son un componente importante de la

toxicidad de la EP. Se ha mostrado que la forma protofibrilar de la α -sinucleína podría permeabilizar las vesículas membranosas de manera transitoria, lo que altera la homeostasis intracelular (por ejemplo, del calcio), lo que predispone a las células a sufrir apoptosis.⁸⁵ Además se ha visto que la toxicidad de α -sinucleína aumenta por la generación de radicales de oxígeno en presencia de dopamina,⁸⁶ y que la dopamina, *in vitro*, puede formar aductos con α -sinucleína.⁸⁷ La inhibición farmacológica de la producción de dopamina (inhibidor de tirosina hidroxilasa), es capaz de eliminar la apoptosis inducida por α -sinucleína.⁸⁶

5.3. DJ-1

DJ-1 es una proteína ubicua. Descrita inicialmente como un oncogén, localizada en el citoplasma, que se asocia con la mitocondria y el núcleo tras la oxidación, se ha demostrado que participa en la protección frente al estrés oxidativo. Se han descrito que las mutaciones puntuales (L166P, D149A) en este gen causan una rara EP autosómica recesiva de inicio temprano.⁸⁸ Ratones *knock-out* para DJ-1 no muestran anormalidades neuronales ni anatómicas, pero son más sensibles a la intoxicación con MPTP, con mayor pérdida neuronal en la SNpc y mayor denervación dopaminérgica en el estriado.⁸⁹

La sobreexpresión DJ-1 se asocia con un aumento de la protección contra la neurodegeneración inducida por toxinas. De acuerdo con esta última observación, tanto *in vitro* como *in vivo*, los datos indican que los insultos tóxicos conducen a la expresión mejorada de DJ-1, probablemente como un mecanismo de defensa para contrarrestar el aumento del estrés oxidativo.⁸⁹

6. Conclusiones

La naturaleza y el mecanismo de acción de los diversos agentes empleados en los modelos de parkinsonismo, es variable. Para la elección del modelo adecuado no solo se debe considerar el mecanismo de acción,

sino también la vía y el vehículo de administración, los efectos que prevé evaluar, el índice de mortalidad al emplear cualquier agente, el tipo de modelo (crónico o agudo) y la evidencia científica que hay sobre el agente que desee emplear. Hoy en día, el agente más utilizado para la reproducción de modelos de parkinsonismo es la 6-OHDA, ya que aunque se administra intracerebralmente, presenta gran selectividad de daño y el cuadro clínico que se produce al dañar ipsilateralmente puede evaluarse tras la administración de otros agentes como anfetaminas, lo que facilita la evaluación del daño. Además, la evidencia científica sobre esta neurotoxina es muy extensa, lo que facilita su aplicación.

Otro de los agentes químicos empleados con gran frecuencia, es la neurotoxina MPTP, este a diferencia de la 6-OHDA posee la particularidad de atravesar la barrera hematoencefálica por lo que sus vías de administración suelen ser variables, además es sumamente extensa la evidencia científica sobre esta neurotoxina y es de los agentes cuyo mecanismo de acción se encuentra ampliamente estudiado. En el modelado de parkinsonismo así como de otras patologías, se recomienda el uso de dos o más agentes para validar los resultados obtenidos con ambos, en esta revisión hemos plasmado las características principales de los agentes comúnmente utilizados para facilitar esta tarea.

7. Agradecimientos

Agradecemos al Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara, por su colaboración y apertura hacia nuestros estudios.

8. Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

9. Referencias

1. Ortiz G, Pacheco-Moisés P, Macías-Islas M, Jiménez-Gil F, Miranda-Díaz A, Flores-Alvarado L, et al. Toxicidad de plaguicidas y su asociación con la enfermedad de Parkinson. *Arch Neurocién (Mex)*. 2011;16 (1): 33-39.
2. Van-der-Mark M, Brouwer M, Kromhout H, Nijssen P, Huss A, and Vermeulen R. Is Pesticide Use Related to Parkinson Disease? Some Clues to Heterogeneity in Study Results. *Environ Health Persp*. 2012; 120(3): 340-347.
3. Tanner C, Kamel F, Webster-Ross G, Hoppin J, Goldman S, Korell M, et al. Rotenone, Paraquat and Parkinson's Disease. *Environ Health Persp*. 2011; 119(6): 866-872.
4. Mulcahy P, Walsh S, Paucard A, Rea K, Dowd E. Characterisation Of A Novel Model Of Parkinson's Disease By Intra-Striatal Infusion Of The Pesticide Rotenone. *Neuroscience*. 2011; 181: 234–242.
5. Greenamyre JT, Cannon JR, Drolet R, and Pier-Giorgio M. Lessons from the rotenone model of Parkinson's disease. *Trends Pharmacol Sci*. 2010; 31(4): 141–142.
6. Inden M, Kitamura Y, Abe M, Tamaki A, Takata K, Taniguchi T. Parkinsonian Rotenone Mouse Model: Reevaluation of Long-Term Administration of Rotenone in C57Bl/6 Mice. *Biol Pharm Bull*. 2011. 34 (1): 92-96.
7. Pan-Montojo F, Anichtchik O, Denning Y, Knels L, Pursche S, et al. Progression of Parkinson's Disease Pathology Is Reproduced by Intra-gastric Administration of Rotenone in Mice.; *Plos One*. 2010; 5(1): e8762.

8. Zhaohui L, Tianxia L, Dejun Y, Wanli WS. Curcumin protects against rotenone-induced neurotoxicity in cell and drosophila models of Parkinson's disease. *Adv Behav Biol.* 2013; 2(1): 18-27.
9. Choi WS, D. Palmiter R, Xia I Z. Loss of mitochondrial complex I activity potentiates dopamine neuron death induced by microtubule dysfunction in a Parkinson's disease model. *J Cell Biol.* 2011; 192: 873–882.
10. M. Rappolda P, Cuia M, S. Chessera A, Tibbetta J, C. Grima J, Duanc L, et al. Paraquat neurotoxicity is mediated by the dopamine transporter and organic cation transporter-3. *P Natl Acad Sci Usa.* 2011; 108 (51): 20766–20771.
11. Xiong N, Xiong J, Jia M, Liu L, Zhang X, Chen Z, et al. The role of autophagy in Parkinson's disease: rotenone-based modeling. *Behavioral and Brain Functions.* 2013. 9:13.
12. Le W, Sayana P, Jankovic J. Animal models of Parkinson's disease: a gateway to therapeutics? *Neurotherapeutics.* 2014; 11(1): 92-110
13. Cabeza-Arvelaiz Y, Schiestl RH. Transcriptome Analysis of a Rotenone Model of Parkinsonism Reveals Complex I-Tied and -Untied Toxicity Mechanisms Common to Neurodegenerative Diseases. *Plos One.* 2012; 7(9): e44700.
14. Gómez-Chavarín M, Díaz-Pérez R, Morales-Espinosa R, Fernández-Ruiz J, Roldán-Roldán G, Torner C. Efecto de la exposición al pesticida rotenona sobre el desarrollo del sistema dopaminérgico nigroestriatal en ratas. *Salud Ment.* 2013; 36: 1-8.
15. Nisticò R, Mehdawy B, Piccirilli S, Mercuri N. Paraquat- and Rotenone-Induced Models of Parkinson's Disease. *Int J of Immunopathol and Pharmacol.* 2011; 24 (2): 313-22.
16. Blesa J, Phani S, Jackson-Lewis V, Przedborski S. Classic and New Animal Models of Parkinson's Disease. *J Biomed Biotechnol.* 2012; 2012:845618.
17. Berry C, La Vecchia C, Nicotera P. Paraquat and Parkinson's disease. *Cell Death Differ.* 2010; 17: 1115-1125.
18. Gasser PJ, Orchinik M, Raju I, Lowry CA. Distribution of organic cation transporter 3, a corticosterone-sensitive monoamine transporter, in the rat brain. *J Comp Neurol.* 2009; 512:529–555.
19. Peng J, Peng L, Stevenson FF, Doctrow SR, Andersen JK. Iron and Paraquat as Synergistic Environmental Risk Factors in Sporadic Parkinson's Disease Accelerate Age-Related Neurodegeneration. *J Neurosci.* 2007; 27(26): 6914-6922.
20. Zhou H, Huang C, Tong J, Xia XG. Early Exposure to Paraquat Sensitizes Dopaminergic Neurons to Subsequent Silencing of PINK1 Gene Expression in Mice. *Int J Biol Sci.* 2011; 7(8): 1180-1187.
21. María Victoria Sosti bajo la dirección de Jaime Kulisevsky Bojarski. Caracterización molecular y determinación del perfil cognitivo de modelos de parkinsonismo en rata inducidos por 6-OHDA. Tesis Adscrita al Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona 2013.
22. Inamdar AA, Chaudhuri A, O'Donnell J. The Protective Effect of Minocycline in a Paraquat-Induced Parkinson's Disease Model in Drosophila is Modified in Altered Genetic Backgrounds. *Parkinson's Disease.* 2012; 2012; 2012:938528.
23. Matthews M, Bondi C, Torres G, Moghaddam B. Reduced presynaptic

- dopamine activity in adolescent dorsal striatum. *Neuropsychopharmacology*. 2013; 38(7):1344-51.
24. Price MT, Fibiger HC. Apomorphine and amphetamine stereotypy after 6-hydroxydopamine lesions of the substantia nigra. *Eur J Pharmacol*. 1974;29:249-52.
 25. Abeliovich A, Schmitz Y, Farinas I, Choi-Lundberg D, Ho WH, Castillo PE, et al. Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron*. 2000;25:239-52.
 26. Przedborski S, Tieu K. 2006. Toxic animal models. In *Neurodegenerative diseases* (ed. Beal MF, et al.), pp. 196–221. Cambridge University Press, Cambridge.
 27. Guillot TS, Shepherd KR, Richardson JR, Wang MZ, Li Y, Emson PC, Miller GW. Reduced vesicular storage of dopamine exacerbates methamphetamine-induced neurodegeneration and astrogliosis. *J Neurochem*. 2008; 106:2205–2217.
 28. Yuan J, Darvas M, Sotak B, Hatzidimitriou G, McCann UD, Palmiter RD, Ricaurte GA. Dopamine is not essential for the development of methamphetamine-induced neurotoxicity. *J Neurochem*. 2010; 114: 1135-1142.
 29. Yuan J, Cord BJ, McCann UD, Callahan BT, Ricaurte GA. Effect of depleting vesicular and cytoplasmic dopamine on methylenedioxymethamphetamine neurotoxicity. *J Neurochem*. 2002; 80: 960–969.
 30. Carlsson A. The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacol Rev*. 1959; 11: 490-493.
 31. Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T. 3, 4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *NATURE*. 1957; 180: 1200.
 32. Tieu K. A guide to neurotoxic animal models of Parkinson's disease. *Csh Perspect Med*. 2011; 1(1): a009316.
 33. Heeringa MJ, Abercrombie ED. Biochemistry of somatodendritic dopamine release in substantia nigra: an in vivo comparison with striatal dopamine release. *J Neurochem*. 1995; 65:192–200.
 34. Kannari K, Tanaka H, Maeda T, Tomiyama M, Suda T, Matsunaga M. Reserpine pretreatment prevents increases in extracellular striatal dopamine following L-DOPA administration in rats with nigrostriatal denervation. *J Neurochem*. 2000; 74 (1): 263-269.
 35. Robledo P, Feger J. Acute monoaminergic depletion in the rat potentiates the excitatory effect of the subthalamic nucleus in the substantia nigra pars reticulata but not in the pallidal complex. *J Neural Transm-Gen*. 1991;86:115-126
 36. Benazzouz A, Breit S, Koudsie A, Pollak P, Krack P, Benabid AL. Intraoperative microrecordings of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. *Movement Disord*. 2002;17:S145-S149.
 37. Gossel M, Schmidt WJ, Loscher W, Zajackowski W, Danysz W. Effect of coadministration of glutamate receptor antagonists and dopaminergic agonists on locomotion in monoamine-depleted rats. *J Neural Transm-Park*. 1995; 10: 27-39.
 38. Utley JD, Carlsson A. Relative effects of L-DOPA and its methyl ester given orally or intraperitoneally to reserpine-treated mice. *Acta Pharmacol Tox*. 1965;23:189-93.

39. Davis GC, Williams AC, Markey SP, Ebert MH, Caine ED, Reichert CM, et al. Chronic Parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. *Psychiat Res.* 1979;1:249-54.
40. Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science.* 1983;219:979-80.
41. Langston JW, Forno LS, Rebert CS, Irwin I. Selective nigral toxicity after systemic administration of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 5, 6-tetrahydropyridine (MPTP) in the squirrel monkey. *Brain Res.* 1984;292:390-4.
42. Singer TP, Castagnoli N, Ramsay RR, Trevor AJ. Biochemical events in the development of parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine. *J Neurochem.* 1987;49(1):1-8.
43. Cohen G. Monoamine oxidase and oxidative stress at dopaminergic synapses. *J Neur Trs.* 1990;32:229-38.
44. Ramsay RR, Kowal AT, Johnson MK, Salach JI, Singer TP. The inhibition site of MPP⁺, the neurotoxic bioactivation product of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine is near the Q-binding site of NADH dehydrogenase. *Arch Biochem Biophys.* 1987;259:645-9.
45. Alarcón-Aguilar A, Abel SA, Königsberg-Fainstein M. Modelos neurotóxicos de la enfermedad de parkinson y disfunción mitocondrial. *Rev.* 2010; 29(3): 91-99.
46. Bové J, Perier C. Neurotoxin-based models of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2012; 211:51-76.
47. Mandavilli BS, Ali SF, Van-Houten B. DNA damage in brain mitochondria caused by aging and MPTP treatment. *Brain Res.* 2000;885:45-52.
48. Langston JW, Irwin I, DeLanney LE. The biotransformation of MPTP and disposition of MPP⁺: the effects of aging. *Life Sci.* 1987; 40:749-754.
49. Schmidt N, Ferger B. Neurochemical findings in the MPTP model of Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2001;108:1263-82.
50. Sedelis M, Hofele K, Auburger GW, Morgan S, Huston JP, Schwarting RK. MPTP susceptibility in the mouse: behavioral, neurochemical, and histological analysis of gender and strain differences. *Behav Genet.* 2000;30: 171-182.
51. Jackson-Lewis V, Jakowec M, Burke RE, Przedborski S. Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Neurodegeneration.* 1995;4:257-69.
52. Hunot S, Vila M, Teismann P, Davis RJ, Hirsch EC, Przedborski S, et al. JNK mediated induction of cyclooxygenase 2 is required for neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease. *P Natl Acad Sci-Biol.* 2004;101:665-70.
53. Tatton NA, Kish SJ. In situ detection of apoptotic nuclei in the substantia nigra compacta of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated mice using terminal deoxynucleotidyl transferase labelling and acridine orange staining. *Neuroscience.* 1997;77:1037-48.
54. Vila M, Vukosavic S, Jackson-Lewis V, Neystat M, Jakowec M, Przedborski S. Alpha-synuclein up-regulation in substantia nigra dopaminergic neurons following administration of the

- parkinsonian toxin MPTP. *J Neurochem.* 2000;74:721-9.
55. Bezard E, Dovero S, Bioulac B, Gross C. Effects of different schedules of MPTP administration on dopaminergic neurodegeneration in mice. *Exp Neurol* 1997;148:288-92.
 56. Bezard E, Dovero S, Bioulac B, Gross CE. Kinetics of nigral degeneration in a chronic model of MPTP-treated mice. *Neurosci Lett.* 1997;234:47-50.
 57. Thoenen H, Tranzer JP. Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-Hydroxydopamine. *N-S Arch Ex Path Ph.* 1968; 261: 271-288.
 58. Porter CC, Totaro JA, Burcin A. The relationship between radioactivity and norepinephrine concentrations in the brains and hearts of mice following administration of labelled methyl dopa or 6-hydroxydopamine. *Pharmacol Exp Ther.* 1965; 150: 17-22.
 59. Porter CC, Totaro JA, Stone CA. Effects of 6-hydroxydopamine and some other compounds on the concentration of norepinephrine in the hearts of mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 1963; 140, 308-316.
 60. Ungerstedt U. 6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol.* 1968; 5: 107-110.
 61. Luthman J, Fredriksson A, Lewander T, Jonsson G, Archer T. Effects of amphetamine and methylphenidate on hyperactivity produced by neonatal 6-hydroxydopamine treatment. *Psychopharmacology.* 1989;99: 550-557.
 62. Cohen G, Werner P. Free radicals, oxidative stress, and neurodegeneration. *EnCalne DB (ed). Neurodegenerative diseases.* Saunders, Philadelphia; 1994. p. 139-162.
 63. Simola N, Morelli M, Carta AR. The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Neurotox Res.* 2007; 1:151-167.
 64. Jonsson G. Chemical lesioning techniques: monoamine neurotoxins. En: Björklund A HKT, editor. *Handbook of chemical neuroanatomy Methods in chemical neuroanatomy.* Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V., 1983. p. 463-507.
 65. Javoy F, Sotelo C, Herbet A, Agid Y. Specificity of dopaminergic neuronal degeneration induced by intracerebral injection of 6-hydroxydopamine in the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res.* 1976;102:201-15.
 66. Jeon B, Jackson-Lewis SV, Burke RE. 6-Hydroxydopamine lesion of the rat substantia nigra: time course and morphology of cell death. *Neurodegeneration.* 1995;4:131-137.
 67. Faull RL, Lavery R. Changes in dopamine levels in the corpus striatum following lesions in the substantia nigra. *Exp Neurol.* 1969;23:332-40.
 68. Przedborski S, Levivier M, Jiang H, Ferreira M, Jackson-Lewis V, Donaldson D. Dose-dependent lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced by intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine. *Neuroscience.* 1995;67:631-47.
 69. Sauer H, Oertel WH. Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: a combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat. *Neuroscience.* 1994;59:401-15.

70. Marti MJ, James CJ, Oo TF, Kelly WJ, Burke RE. Early developmental destruction of terminals in the striatal target induces apoptosis in dopamine neurons of the substantia nigra. *J Neurosci* 1997;17:2030-9.
71. O'Keeffe G, Barker RA, Caldwell MA. Dopaminergic modulation of neurogenesis in the subventricular zone of the adult brain. *Cell Cycle*. 2009; 15:2888-2894.
72. Meredith GE, Sonsalla PK, Chesselet MF. Animal models of Parkinson's disease progression. *Acta Neuropathol*. 2008;115(4):385-98.
73. Hwang DY, Fleming SM, Ardayfio P, Moran-Gates T, Kim H, Tarazi FI, Chesselet MF, Kim KS. 3, 4-dihydroxyphenylalanine reverses the motor deficits in Pitx3-deficient aphakia mice: behavioral characterization of a novel genetic model of Parkinson's disease. *J Neurosci*. 2005;25(8):2132-7.
74. Haubenberger D, Reinthaler E, Mueller JC, Pirker W, Katzenschlager R, Froehlich R, Bruecke T, Daniel G, Auff E, Zimprich A. Association of transcription factor polymorphisms PITX3 and EN1 with Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2001;32(2):302-7
75. Zhu XR, Maskri L, Herold C, Bader V, Stichel CC, Güntürkün O, Lübbert H. Non-motor behavioural impairments in parkin-deficient mice. *Eur J Neurosci*. 2007;26(7):1902-11.
76. Hwang M, Lee JM, Kim Y, Geum D. Functional Role of Parkin against Oxidative Stress in Neural Cells. *Endocrinol Metab*. 2014;29(1):62-69.
77. Zarranz JJ, Alegre J, Gómez-Esteban JC, Lezcano E, Ros R, Ampuero I, Vidal L, Hoenicka J, Rodriguez O, Atarés B, Llorens V, Gomez Tortosa E, Del Ser T, Muñoz DG, De Yébenes JG. The New Mutation, E46K, Of Alpha-Synuclein Causes Parkinson And Lewy Body Dementia. *Ann Neurol*. 2004; 55(2):164-73.
78. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. Alpha-Synuclein In Lewy Bodies. *Nature*. 1997;388:839-40.
79. Marques O, Outeiro TF. Alpha-Synuclein: From Secretion To Dysfunction And Death. *Cell Death Dis*. 2012;3:E350.
80. Nieto M, Gil-Bea FJ, Dalfo E, Cuadrado M, Cabodevilla F, Sanchez B, Et Al. Increased Sensitivity To MPTP In Human Alpha-Synuclein A30P Transgenic Mice. *Neurobiol Aging*. 2006; 27:848-56.
81. Dong Z, Ferger B, Feldon J, Bueler H. Overexpression Of Parkinson's Disease-Associated Alpha-Synuclein^{53t} By Recombinant Adeno-Associated Virus In Mice Does Not Increase The Vulnerability Of Dopaminergic Neurons To MPTP. *J Neurobiol*. 2002; 53:1-10.
82. Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J. Et Al., Alpha-Synuclein Locus Triplication Causes Parkinson's Disease. *Science*. 2003; 302(5646):841.
83. Giasson BI, Lee VM. Are Ubiquitination Pathways Central To Parkinson's Disease? *Cell*. 2003; 114:1-8.
84. Kirk D, Rosenblad C, Burger C, Lundberg C, Johansen Te, Mucyczka N, Et Al. Parkinson-Like Neurodegeneration Induced By Targeted Over Expression Of A- Synuclein In The Nigrostriatal System. *J Neurosci*. 2002; 22: 2780-2791.
85. Volles MJ, Lansbury PT Jr. Zeroing In On The Pathogenic Form Of Alpha-Synuclein And Its Mechanism Of Neurotoxicity In

Parkinson's Disease. *Biochemistry* 2003; 42: 7871-7878.

86. Xu J, Kao SY, Lee FJ, Song W, Jin LW, Yankner Ba. Dopamine-Dependent Neurotoxicity Of α -Synuclein: A Mechanism for Selective Neurodegeneration in Parkinson's Disease. *Nat Med.* 2002; 8:600-606.
87. Conway KA, Rochet JC, Bieganski RM, Lansbury PT Jr. Kinetic Stabilization of the α -Synuclein Protofibril by a Dopamine- α -Synuclein Adduct. *Science.* 2001; 294: 1346-1349.
88. Kim RH, Smith PD, Aleyasin H, Hayley S, Mount MP, Pownall S, et al. Hypersensitivity of DJ-1-deficient mice to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) and oxidative stress. *P Natl Acad Sci Usa.* 2005;102:5215-20.
89. Taira T, Saito Y, Niki T, Iguchi-Arigo SM, Takahashi K, Ariga H. DJ-1 has a role in antioxidative stress to prevent cell death. *Embo Rep.* 2004;5:213-8.