

1985 - 2

REG. N° 078587172

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



EFFECTO DE LA 3-ACETILPIRIDINA (3-AP) SOBRE LA
CAPTACION Y LIBERACION DE SEROTONINA (5-HT)
EN EL CEREBELO DE LA RATA.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
AURORA ROSAS RAMIREZ
GUADALAJARA, JALISCO 1987

A G R A D E Z C O

A mis padres y hermanos, por todo el apoyo que me brindaron, tanto en mi formación como profesionalista, como en la realización de este trabajo.

A mi Asesor y Director de Tesis
M. en C. Carlos Beas Zárate,
su orientación y apoyo en la
realización de este trabajo.

Al M. en C. Alberto Morales Vi
llagrán, por la gran ayuda y
apoyo que me prestó durante el
desarrollo de este trabajo.

Este trabajo fué realizado en el Laboratorio de Neuroquímica de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Guadalajara, bajo la dirección y asesoría del M. en C. Carlos Beas Zárate.

I N D I C E

	Pág.
I. INTRODUCCION	1
1. Estructura del Cerebelo	1
2. Vías aferentes al Cerebelo	3
3. Vías eferentes del Cerebelo	7
4. Función del Cerebelo	8
5. Sistemas de Transmisores	9
6. Serotonina en el Cerebelo	13
7. Función y localización de la Serotonina en el Ce- rebelo.	15
II. HIPOTESIS	21
III. OBJETIVOS	22
IV. MATERIAL Y METODOS	23
1. Reactivos	23
2. Diseño Experimental	23
3. Procedimiento	26
V. RESULTADOS	30
1. Captación de Serotonina	30
2. Cinética de Captación	30
3. Liberación de Serotonina	31
VI. DISCUSION	32
VII. CONCLUSION	36
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	37
IX. TABLAS Y FIGURAS	44

EFFECTO DE LA 3-ACETILPIRIDINA (3-AP) SOBRE LA
CAPTACION Y LIBERACION DE SEROTONINA (5-HT)
EN EL CEREBELO DE LA RATA.

I. INTRODUCCION.

1. Estructura del cerebelo.

La corteza cerebelosa histológicamente se divide en tres capas: (Fig. 1)

A) La Capa Molecular: Es la capa más externa y está formada en gran parte por las ramas de bifurcación de los axones de las células granulosas, por las arborizaciones dendríticas de las células de Purkinje y de las células de Golgi. - Contiene los somas, dendritas y axones de las células estrelladas y de las células en canasta (2,3); estos dos tipos de células pueden ser consideradas dentro de una misma clase, ya que ambas reciben impulsos de las fibras paralelas y actúan a través de sus axones sobre las células de Purkinje, además de tener soma, dendritas y axón pequeños (1, 4).

B) La Capa Ganglionar o de Células de Purkinje: Contiene - las células de Purkinje que están dispuestas en un solo estrato. De la parte superior de cada célula sale una dendrita que se ramifica dando origen a un penacho de arborización

nes dendríticas. Estas dendritas hacen contacto sináptico con las fibras paralelas. De la parte inferior de cada célula de Purkinje parte un axón que se ramifica atravesando la capa de células granulares llegando hasta los núcleos cerebelares; algunas ramificaciones del axón hacen contacto con células en canasta y de Golgi (2).

C) La Capa Granulosa: Es la parte más profunda y contiene una población neuronal extraordinariamente rica formada en su mayor parte por células granulosas. Estas son pequeñas al igual que sus dendritas que terminan característicamente en forma de "garra", formando parte de los glomérulos cerebelosos donde entran en relación con las fibras musgosas y células de Golgi. El axón de las células granulares asciende a la capa molecular donde se bifurca en "T" (te); estas fibras con las llamadas fibras paralelas que establecen contactos sinápticos con las espinas dendríticas de las células de Purkinje, de Golgi, estrelladas y en canasta (6,5).

En esta capa también se encuentran las células de Golgi. Estas tienen un soma de forma estrellada del que se origina un árbol dendrítico muy rico en espinas que se expanden en la capa molecular. El axón se origina en la parte basal de la célula y se ramifica en la capa granulosa. Estas terminaciones axónicas forman parte de los glomérulos cerebelosos.

Tanto las células en canasta, estrelladas y de golgi, se consideran de carácter inhibitorio. (2)

2. Vías aferentes al cerebelo.

El cerebelo recibe impulsos conducidos por fibras que se originan en la médula espinal y en el tallo cerebral.

2.1 Fibras espinocerebelosas de la Médula Espinal:

A) Haz Espinocerebeloso Dorsal, que conduce impulsos solamente de los segmentos torácicos inferiores y lumbares al cerebelo (6). Este haz penetra al cerebelo por el cuerpo-restiforme y termina en el vermis (7). Se considera que transmite información propioceptiva general que procede de los receptores musculares y tendinosos (8).

B) Haz Espinocerebeloso Ventral, proviene de los segmentos medulares torácicos inferiores, lumbares y sacros. En general transmite información de los miembros inferiores y de la parte inferior del tronco (9).

C) Haz Espinocerebeloso Rostral, se cree que probablemente se origina en los segmentos superiores de la médula y que transmite información del miembro superior al cerebelo - - (10).

Los haces espinocerebelosos ventral y rostral llevan información propioceptiva general (9).

Las fibras que forman el sistema espinocerebeloso terminan

en la corteza del cerebelo como fibras musgosas (11, 12).

2.2 Fibras que se originan del Tallo Cerebral:

A) Fibras Olivocerebelosas, éstas se originan en la oliva inferior que está situada en el bulbo, emergen por el hilio y penetran al cerebelo por el cuerpo restiforme. Toda la corteza y núcleos centrales del cerebelo reciben fibras de la oliva (13). A los hemisferios llegan fibras de la oliva principal y al vermis de las olivas accesorias. Estas fibras terminan en la corteza del cerebelo como trepadoras (14). La oliva inferior recibe impulsos de la médula espinal y de niveles superiores.

Los haces espinoolivares probablemente transmiten información propioceptiva al cerebro a través de la oliva inferior; se ha postulado que quizás estén también en relación con la sensibilidad cutánea (15, 16).

B) Fibras Vestibulocerebelosas, la información vestibular llega a través de dos rutas: directamente del vestíbulo, por fibras que no hacen relevo en los núcleos vestibulares o a partir de éstos, especialmente del medial y el espinal (17). Estas fibras terminan en el lóbulo flóculonodular y en el núcleo fastigiado, como fibras musgosas (18).

C) Fibras Pontocerebelosas, son las más numerosas conexiones aferentes al cerebelo, se originan de los núcleos del puente y penetran al cerebelo por la branchia pontis. Los

núcleos pontinos proyectan impulsos al vermis y al resto de los hemisferios.

D) Fibras Retículo Cerebelosas, que proceden de diferentes núcleos de la formación reticular tales como:

a) Núcleo reticular lateral, situado en posición lateral a la oliva bulbar; éste recibe impulsos de la médula espinal y da origen a fibras que terminan en el vermis y en los hemisferios cerebelosos; se supone que envía información cutánea al cerebelo, probablemente táctil (19).

b) Núcleo reticular paramediano, envía impulsos al vermis del lóbulo anterior al núcleo fastigiado. Recibe escasas fibras de origen medular, pero importantes conexiones de niveles superiores incluyendo la corteza motora.

c) Complejo perihipogloso, envía fibras a las mismas áreas del cerebelo que el núcleo paramediano. Se le ha relacionado con la transmisión de información propioceptiva, especialmente de la lengua al cerebelo y con impulsos gustatorios.

E) Fibras Trigéminocerebelosas, en vertebrados inferiores parecen ser muy importantes sus conexiones entre los núcleos sensoriales del V par craneal y el cerebelo.

F) Fibras Tectocerebelosas, se han descrito conexiones directas entre el tectum mesencefálico y el cerebelo a través-

de fibras tectocerebelosas que penetran por la branchia con juntiva, pero parecen ser escasas en el hombre (2).

De acuerdo con la disposición anatómica que presentan al - llegar a la corteza dichas fibras se clasifican en dos grupos: musgosas y trepadoras. A excepción de las fibras olivocerebelosas, los axones aferentes al cerebelo parecen terminar como fibras musgosas (12, 20).

Las fibras trepadores y musgosas, son dos sistemas que mandan impulsos directos a las células de Purkinje y se encuentran distribuídas por toda la corteza cerebelar; ésto fué - demostrado por Jan Jansen y Alf Brodal y sus colaboradores (21). Estos trabajos muestran que aparentemente estos dos sistemas están presentes en todos los miembros del subphylum vertebrata.

Las fibras trepadoras comienzan fuera del cerebelo en otras regiones del cerebro tales como la oliva inferior y la médula oblongada (22). Axones ramificados de estas células se extienden dentro del núcleo cerebelar y corteza hasta las - células de Purkinje.

Se ha demostrado que las fibras trepadoras forman sinápsis con las dendritas de las células de Purkinje y que una de - ésta s células y su fibra trepadora tienen probablemente cerca de 300 puntos de contacto sináptico (1). También las fi bras trepadoras emiten colaterales que terminan en contacto con las células estrelladas, en canasta y de Golgi en la ca

pa molecular (23).

Mientras que las fibras trepadoras presentan muchas conexiones con una sola célula de Purkinje, las fibras musgosas - excitan muchas células de Purkinje pero con pocos contactos en cada una de ellas. Las fibras musgosas no terminan directamente en las células de Purkinje como las fibras trepadoras, sino en pequeñas interneuronas, las células granulares, cuya función es incrementar el número de células de Purkinje estimuladas por una sola fibra aferente (1).

Las fibras musgosas se ramifican en la capa granulosa dando origen a numerosas dilataciones bulbosas, las "rosetas" que contribuyen a formar los glomérulos cerebelosos. De esta manera, las fibras trepadoras como musgosas son de carácter excitatorio.

3. Vías eferentes del cerebelo.

Algunos de los impulsos eferentes del cerebelo, son descargados a través de los axones que provienen de células localizadas en los núcleos centrales; y éstos a su vez, reciben impulsos de la corteza cerebelosa a través de las células de Purkinje (21). Los otros impulsos eferentes van por fibras que salen del cerebelo sin tener relación con los núcleos centrales y provienen de las células de Purkinje del vermis y del flóculo y terminan en núcleos vestibulares (1). Por medio de sus conexiones eferentes, el cerebelo tiene in

fluencia sobre motoneuronas medulares, la formación reticular del tallo cerebral, el tálamo y la corteza cerebral.

4. Función del Cerebelo.

Existe gran número de evidencias experimentales acerca de las relaciones funcionales del cerebelo con otras estructuras neuronales (25).

Algunas de las principales funciones del cerebelo son las siguientes: El cerebelo regula el tono postural a través de efectos inhibidores y facilitadores que se originan en la corteza del cerebelo (26). Además, tiene influencia sobre los movimientos originados en la corteza cerebral. Por medio de esta acción, interviene en la regulación del movimiento voluntario; así como también posee efectos inhibidores y facilitadores sobre la corteza motora y en consecuencia, sobre los impulsos originados a este nivel. Sin embargo, los movimientos corticales inducidos pueden ser inhibidos a nivel espinal por acción del cerebelo (27).

Existen importantes evidencias experimentales que indican que el cerebelo interviene en la integración de funciones viscerales. Experiencias tanto de ablación como de estimulación de diferentes partes del cerebelo, han demostrado efectos sobre la respiración, circulación, metabolismo basal, termorregulación, motilidad intestinal y vesical, el diámetro pupilar, etc. (25).

El cerebelo parece tener influencia sobre la información sensorial que llega a los centros de información (28) y finalmente es importante destacar la participación que tiene el cerebelo en la integración de las reacciones estatocinéticas que constituyen la base del equilibrio. Dichas reacciones son el resultado de mecanismos reflejos que se inician en los receptores del laberinto, esta información da origen a reflejos laberínticos estáticos (reflejos tónicos-cervicales y de enderezamiento), que a través de la regulación del tono postural mantienen el equilibrio estático. Los receptores de los conductos semicirculares registran el movimiento en el espacio y la dirección y velocidad del mismo; el estímulo más adecuado para ellos es la rotación de la cabeza y la aceleración angular; a partir de esta información se integran reflejos laberínticos cinéticos que regulan el equilibrio durante el desplazamiento de la cabeza y el cuerpo en el espacio por medio de los ajustes motores apropiados. El cerebelo interviene en la integración de ambos tipos de reflejos laberínticos (26).

5. Sistemas de transmisores.

Los neurotransmisores que se han identificado en el cerebelo hasta el momento son: el aspartato, glutamato, ácido gamma amino butírico (GABA), glicina (29, 37), recientemente la norepinefrina (56) y la serotonina (30).

En el cerebelo se conoce que la activación de las fibras pa

rales ejerce un efecto de tipo excitatorio sobre las células de Purkinje y se ha postulado el ácido glutámico como el compuesto neurotransmisor que media esta acción (30, 31, 32, 33) ya que se ha demostrado una marcada disminución en la liberación de glutámico dependiente de calcio, después de producir una considerable pérdida de células granulares por medio de rayos X (32, 34), las cuales son responsables de proveer este tipo de fibras a la capa molecular de la corteza cerebelosa; también se ha demostrado la liberación dependiente de calcio de preparaciones sinaptosomales de cerebelo estimulada por despolarización con alta concentración de potasio; esta liberación muestra características muy similares a las del GABA (32). Así como la liberación de ácido glutámico de sinaptosomas obtenidos de capa molecular es dos veces mayor que la liberación de glutámico de preparaciones sinaptosomales de cerebelo completo (34, 35).

Estos resultados indican que el glutámico se libera de fibras paralelas, las cuales se localizan principalmente en la capa molecular de cerebelo y sugieren al ácido glutámico como el transmisor de estas fibras (31).

Con respecto al GABA, los estudios que se han realizado sobre su función en el cerebelo a nivel de la corteza cerebelar muestran una acción inhibitoria (38).

Por otro lado, las células en canasta, estrelladas y de Golgi juegan un papel inhibitorio dentro del cerebelo. De es-

ta manera, las células en canasta forman sinapsis de tipo - inhibitorio en regiones cercanas a los somas de las células de Purkinje. Las células estrelladas superficiales forman sinapsis inhibitorias con dendritas de las células de Purkinje, mientras que las células de Golgi hacen sinapsis - inhibitorias con las dendritas de las células granulares.

Los impulsos que llegan al cerebelo son a través de las fibras musgosas y trepadoras, las cuales excitan a las dendritas de las células de Purkinje y granulares; estas últimas se cree que son las únicas células del cerebelo con función excitatoria.

Análisis bioquímicos del sistema de GABA realizados en corteza cerebelar, sugieren la posibilidad de que todas las células inhibitorias del cerebelo, utilizan al GABA como neurotransmisor (36). Además en algunos estudios inmunocitoquímicos, se observa GABA a los lados del cuerpo y las dendritas de las células de Purkinje, en el cuerpo de las células estrelladas y en neuronas del núcleo interpósito, sin descartar la posibilidad de relacionarse con estructuras que podrían pertenecer a la glía de la corteza cerebelar (36, 38).

Con lo que respecta al aspartato su acción no es clara, pero se sabe que puede ser liberado en forma dependiente de calcio bajo una estimulación eléctrica de terminales nerviosas aspartaminérgicas o glutaminérgicas. De esta forma se

ha propuesto que las células granulares podrían utilizar - aspartato como neurotransmisor excitatorio al igual que el glutamato (40). El hecho de que la liberación de aspartato se mantenga aún con destrucción de células de la oliva bulbar inferior, indica que éste, no es un neurotransmisor importante de las fibras trepadoras, sino más bien de las fibras paralelas (29).

Por otra parte, la glicina tiene carácter inhibitorio y se piensa que está asociada a las células de Golgi. Se descarta la glicina como neurotransmisor liberado a nivel de las fibras trepadoras, debido a que los niveles de ésta casi no se alteran por la destrucción de la oliva bulbar (39).

Con lo que respecta a la presencia de norepinefrina en el cerebelo, las fibras noradrenérgicas provienen del núcleo locus coeruleus las cuales penetran al cerebelo por el pedúnculo cerebelar superior, atraviesan la materia blanca y llegan a la corteza cerebelar. Estas fibras noradrenérgicas terminan ramificándose en "T" (te) y corren paralelamente a la superficie de la capa molecular. Parece que su efecto es inhibir descargas espontáneas a nivel de células de Purkinje que a su vez son excitadas por fibras trepadoras y musgosas, ya que terminales noradrenérgicas establecen contacto sináptico con dendritas de las células de Purkinje (56).

Por otro lado, se ha visto que la norepinefrina aumenta las

respuestas excitatorias o inhibitorias de las células de Purkinje, ésto implica que la acción de la norepinefrina es más compleja que una simple actividad de depresión, - por lo que se establece una estrecha relación de terminales noradrenérgicas con células estrelladas y en canasta, reforzando el efecto inhibitorio de éstas. Todo ésto sugiere que la norepinefrina en el cerebelo podría jugar - un papel funcional importante en el mecanismo fisiológico del procesamiento de la información cerebelar, además de actuar como un regulador del circuito neuronal en el cerebelo (57).

6. Serotonina en el Cerebelo.

La serotonina (5-HT) históricamente es el neurotransmisor más íntimamente relacionado con la neuropsicofarmacología. A mediados del Siglo XIX, se sabía que una sustancia que se encontraba en el suero inducía contracción del músculo liso; mas adelante esta sustancia se aisló - como posible causante de la alta presión sanguínea. Posteriormente, se caracterizó una sustancia que se encontró en altas concentraciones en células cromafines de la mucosa intestinal, la cual también inducía contracción del músculo liso. A la sustancia que se aisló del suero se le llamó "Serotonina" y a la aislada del tracto intestinal "enteramina". (53)

Después, ambas sustancias se purificaron y cristalizaron y resultaron ser 5-hidroxitriptamina (Serotonina).

La serotonina se encuentra en muchas células que no son - neuronas, como plaquetas, mastocitos y células enterocromafines, así, cerca del 1 al 2% de la serotonina del cuerpo se encuentra en el cerebro. Sin embargo, como la serotonina no puede atravesar la barrera hematoencefálica, - las células del cerebro tienen que sintetizarla. Para estas células el primer paso importante es captar el triptófano, que es el sustrato primario en la síntesis.

El triptófano del plasma proviene de la dieta principalmente y cuando se elimina éste de la dieta, bajan los niveles de serotonina en el cerebro (53). Así un sistema de captación activo facilita la entrada de triptófano a la célula, habiendo competencia en este proceso por la fenilalanina principalmente.

El triptófano del plasma tiene una variación rítmica diaria en su concentración y esto podría influir en el nivel y síntesis de serotonina cerebral. El siguiente paso en la vía sintética de la serotonina es la hidroxilación del triptófano en la posición 5 por la enzima triptófano hidroxilasa, dando lugar al 5-hidroxitriptófano. Esta enzima es básica en la síntesis de serotonina y para su funcionamiento requiere de altas concentraciones de oxígeno molecular, así como de un cofactor, pteridina reducido, -

y en condiciones *in vitro*, también requiere de una sustancia estabilizante de grupos sulfhidrilos como el 2-mer--
captoetanol y un pH de 7.2. Quizás la formación de serotonina podría estar influenciada por la cantidad de oxígeno en el tejido (como se ha demostrado en ratas) (53). El paso final de la síntesis de serotonina es una descarboxilación por una aminoácido descarboxilasa, dando lugar a -
la 5-hidroxitriptamina (serotonina). La única vía por la que continúa el metabolismo de la serotonina es la desaminación por una monoamino oxidasa, dando lugar al ácido -
5-hidroxilindolacético.

7. Función y Localización de la Serotonina en el Cerebelo.

Se ha demostrado que la serotonina es un neurotransmisor de la corteza cerebelar de la rata, ya que tanto en fracciones sinaptosomales de cerebelo como en homogenados de capa molecular de cerebelo, son capaces de acumular serotonina exógena en forma dependiente de sodio con un sistema de transporte de alta afinidad, así como también de liberarla por un mecanismo dependiente de calcio (41, -
42, 43).

Comunmente las fibras serotoninérgicas en cerebelo se -
describen como un sistema difuso de elementos fibrosos -
(44, 45, 46, 47), básicamente son 3 sistemas aferentes -

de serotonina en el cerebelo de la rata:

a) Fibras musgosas típicas. b) Sistema difuso representado por finos axones en "rosario" dispersos por las tres - capas. c) Fibras paralelas (49).

En algunos estudios realizados en el cerebelo de la rata, se observa que las fibras nerviosas serotoninérgicas se - distribuyen en todo el cerebelo, incluyendo la parte profunda del núcleo cerebelar (48). En otros estudios se observó que estas fibras siguen un patrón de distribución - en todos los lóbulos de la corteza cerebelar; así como - también existen diferencias en la distribución laminar y - orientación de las fibras serotoninérgicas en los diferentes lóbulos y entre las distintas especies (50).

La distribución de las fibras serotoninérgicas en las distintas regiones del cerebelo se establecen de la siguiente forma:

Lóbulos laterales: En el paraflóculo, las fibras y varicidades serotoninérgicas están principalmente en la parte superior de la capa de células granulares, junto a la capa de células de Purkinje; pocas fibras están en la capa molecular en forma paralela a la superficie pial.

En el lóbulo paramediano existen pocos elementos serotoninérgicos, al igual que en el lóbulo simple, en donde algu

nas fibras serotoninérgicas pasan a través de la capa molecular hasta las meninges.

En el lóbulo semilunar superior que se encuentra inmediatamente después del lóbulo simple, la mayor densidad de fibras serotoninérgicas se encuentra en toda la capa de células granulares; pocas se encuentran en la capa molecular con una orientación similar al paraflóculo.

En el lóbulo semilunar inferior hay un cambio en el patrón de serotonina, en esta folia, solo pocas fibras están sobre la capa de células granulares, pero hay una mayor densidad de fibras en la capa molecular con orientación al azar (44).

Lóbulos del vermis: En la parte media del vermis, la serotonina está en todas las folias, pero la mayor densidad se ve en los lóbulos posteriores, principalmente en los lóbulos del VIII al X.

En la parte caudal del lóbulo X, hay una gran densidad de fibras serotoninérgicas por toda la capa granular, al igual que en la molecular.

En la parte rostral del vermis, en las folias V y VI, la capa de células granulares tiene poca cantidad de fibras serotoninérgicas en comparación con el contenido de la folia X, y las fibras que se encuentran en la capa molecu-

lar tienen una orientación radial.

En las folias III y IV la densidad de fibras serotoninérgicas disminuye y no hay diferencias entre las capas molecular y de células granulares (44).

En las folias I y II las fibras serotoninérgicas de la capa molecular están orientadas en el plano transversal como en el lóbulo X. Así las fibras serotoninérgicas pasan entre los cuerpos de las células de Purkinje a la capa molecular, formando un plexo alrededor de estas células, hasta llegar a la superficie pial (44).

Estos hallazgos sobre las variaciones lobulares y laminares dentro de y entre diferentes especies, indica que funcionalmente la serotonina podría ejercer un efecto fisiológico en diferentes poblaciones de neuronas de la corteza cerebelar, en los diferentes lóbulos (51, 52).

Por este hecho y por estudios realizados anteriormente sobre el efecto de la serotonina, se ha hipotetizado que esta podría tener un efecto excitatorio así como inhibitorio sobre las diferentes neuronas de la corteza cerebelar - - (53, 54).

Por lo que se refiere al origen de los aferentes serotoninérgicos al cerebelo, se encontró que varios núcleos del rafe y reticulares tienen proyecciones al cerebelo (44).-

Sin embargo, la mayoría de las neuronas serotoninérgicas que se proyectan al cerebelo se restringen a pocos núcleos. Dos de estos núcleos se localizan junto a cada formación bulbar reticular, que son: el núcleo reticularis gigantocelularis y el núcleo reticularis paragigantocelularis. Un tercer núcleo se encuentra en la formación pontina reticular y es el núcleo reticularis pontis oralis.

Todo parece indicar que una población de neuronas serotoninérgicas se encuentra principalmente en aquella porción del núcleo reticularis gigantocelularis que se localiza dorsal y lateralmente a la porción rostral del núcleo olivar accesorio dorsal y otra población se localiza hacia el lado rostral de la oliva inferior, extendiéndose a nivel del cuerpo trapezoide. Esto implica una restricción de áreas de entrada de serotonina al cerebelo. De esta forma la población de neuronas serotoninérgicas del rafé que se proyectan al cerebelo es muy pequeña o tiene una limitada distribución terminal (55).

A la fecha ya se han comunicado estudios que muestran que el cerebelo recibe un plexo indolaminérgico, demostrado por histoquímica de fluorescencia (49, 58), como también por autoradiografía, seguido de la captación de serotonina marcada radioactivamente (51, 55). Recientemente se ha descrito que la corteza cerebelar es capaz de captar 6-hi-

droxitriptamina (59), compuesto que se acumula particularmente en terminales serotoninérgicas (49). En base a esto se puede asegurar que la serotonina es un neurotransmisor de la corteza cerebelar. Sin embargo, aún no se conoce con precisión cuál es el neurotransmisor que liberan las fibras trepadoras que provienen de la oliva bulbar.

HIPOTESIS

La 3-acetilpiridina (3-AP) produce lesión de la oliva bular inferior y dicho núcleo neuronal representa la principal aferencia de fibras trepadoras a la corteza cerebe---lar, entonces después de lesionar dicho núcleo se ve disminuída la captación dependiente de sodio y liberación dependiente de calcio de serotonina (5-HT) en rebanadas de corteza cerebelar.

OBJETIVOS

1. Determinar la captación de serotonina en rebanadas de corteza cerebelar de rata, antes y después de le sionar la oliva bulbar, con 3-acetilpiridina (3-AP).
2. Determinar la liberación de serotonina dependiente de calcio en rebanadas de corteza cerebelar de rata, antes y después de lesionar la oliva bulbar, - con 3-acetilpiridina (3-AP).

MATERIAL Y METODOS

1. REACTIVOS.

Se utilizaron los siguientes compuestos: el cloruro de sodio (NaCl), fosfato de sodio monobásico (NaH_2PO_4), fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4), bicarbonato de sodio (NaHCO_3), cloruro de calcio (CaCl_2), fueron adquiridos de J.T. Baker (México). Glucosa, sacarosa, cloruro de magnesio (MgCl_2), sulfato de magnesio (MgSO_4), ácido ascórbico, cloruro de potasio (KCl), fueron adquiridos de Merck (México). La 3-acetilpiridina (3-AP), ácido etilenglicol tetra acético (E.G.T.A.), pargilina, harmalina, nicotinamida, fueron adquiridos de Sigma Chemical (Company). La serotonina (actividad específica de 19.8 Ci/m mol) fue adquirida de Amersham (Inglaterra).

2. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Para el desarrollo de este trabajo se llevaron a cabo los experimentos en ratas adultas de la cepa Wistar de dos meses de edad y con un peso de 250-300 gr., mantenidas en condiciones de bioterio, 12 Hrs. luz, 12 Hrs. obscuridad, con alimentación normal a la temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ y con el 40 a 50% de humedad relativa ambiental.

La lesión de la oliva bulbar inferior, se produjo por inyección intraperitoneal del antimetabolito de la nicotinamida, 3-acetilpiridina (3-AP) a una concentración de 75 mg. por kilogramo de peso, de acuerdo con Llinás y col. (60). - Solo se tomaron aquellos animales que presentaron los signos clínicos característicos de lesión cerebelar que fueron: ataxia, dificultad para respirar y deglutir alimento y falta de coordinación en todos sus movimientos.

Los experimentos de captura y liberación de 5-HT, se realizaron en tres grupos de animales, de acuerdo al siguiente diseño experimental (Diagrama 1):

Grupo I. Se le administró intraperitonealmente, solución salina fisiológica (SSF) y a los 90 minutos nicotinamida con dosis de 300 mg. por kilogramo de peso.

Grupo II. Se le administró intraperitonealmente, solución salina fisiológica (SSF); 3 Hrs. después harmalina a una dosis de 15 mg. por kilogramo de peso y 90 minutos después nicotinamida a una dosis de 300 mg. por kilogramo de peso.

Grupo III. Al grupo problema se le administró intraperitonealmente 3-AP a una dosis de 75 mg. por kilogramo de peso (con dosis única), 3 Hrs. después harmalina a una dosis de 15 mg. por kilogramo de peso y 90 minutos después nicotinamida a una dosis de 300 mg. por kilogramo de peso.

Los grupos I y II se utilizaron como testigos.

El testigo con solución salina se realizó previamente y no se encontró ninguna diferencia en los resultados con respecto al testigo tratado con solución salina fisiológica y nicotinamida.

Por otro lado, no fué posible establecer un grupo de animales tratados únicamente con 3-AP debido a que el período de vida después de la administración del fármaco resultó demasiado corto, por lo que se optó por implementar un modelo preestablecido por Toggenburger y col. (29), el cual permite prolongar la vida de los animales hasta por 4 semanas al administrar 3-AP en combinación con la harmalina y la nicotinamida.

Después del tratamiento farmacológico de los diferentes grupos, al grupo III fué necesario alimentarlo por medio de una sonda debido a la dificultad que presentaron para ingerir alimento, conforme a este procedimiento de alimentación fue posible mantener a los animales vivos hasta el momento del sacrificio (15 días después del tratamiento farmacológico). Después de este tiempo los animales fueron sacrificados por decapitación, el cerebelo fue rápidamente removido y se obtuvieron rebanadas de corteza cerebelar con un peso de 20 a 30 mg., este procedimiento se llevó a cabo de 0° a 4°C, posteriormente, el tejido se colocó en un vial que contenía 1 ml. de medio de incubación con los componentes nece

sarios para efectuar los experimentos de captación y liberación de 5-HT.

3. PROCEDIMIENTO.

EXPERIMENTOS DE CAPTACION

Después de la obtención de las rebanadas de corteza cerebral se midió la captación de serotonina marcada 5-HT-³H de acuerdo al procedimiento descrito por Beas-Zárate y col. (41) el cual consistió en lo siguiente: el tejido se preincubó durante 5 minutos a 37°C en baño María y con agitación continua en una solución de Krebs-bicarbonato que además contenía 80 μ M de pargilina y 1 mM de ácido ascórbico ajustada a un pH de 7.4 con una mezcla de CO₂-O₂ (5% - 95%).

Después de la preincubación de las muestras se adicionó la 5-HT marcada correspondiente a una concentración final de 0.1 μ M y se prolongó la incubación durante 5 minutos más. Al término de este tiempo, se tomó una alícuota de 100 μ l para control radioactivo y posteriormente la muestra correspondiente fue transferida a un sistema de filtración millipore montado sobre una caja a la cual se le aplicó vacío de 10 a 12 mm de Hg con el propósito de extraer el medio de incubación por succión; después las muestras se lavaron con 5 ml. de medio de incubación a temperatura ambiente y el filtrado se eliminó por vacío.

El filtro se depositó en un vial al que se le adicionó 5 ml. de líquido de centelleo (tritosol) y se contó la radioacti-

vidad en un contador de centello líquido Packard modelo No. 3390.

En cada experimento se tomó como testigo la radioactividad acumulada durante la incubación de 0° a 4°C y el valor obtenido en estas condiciones se restó del obtenido a la temperatura de 37°C.

EXPERIMENTOS DE LIBERACION.

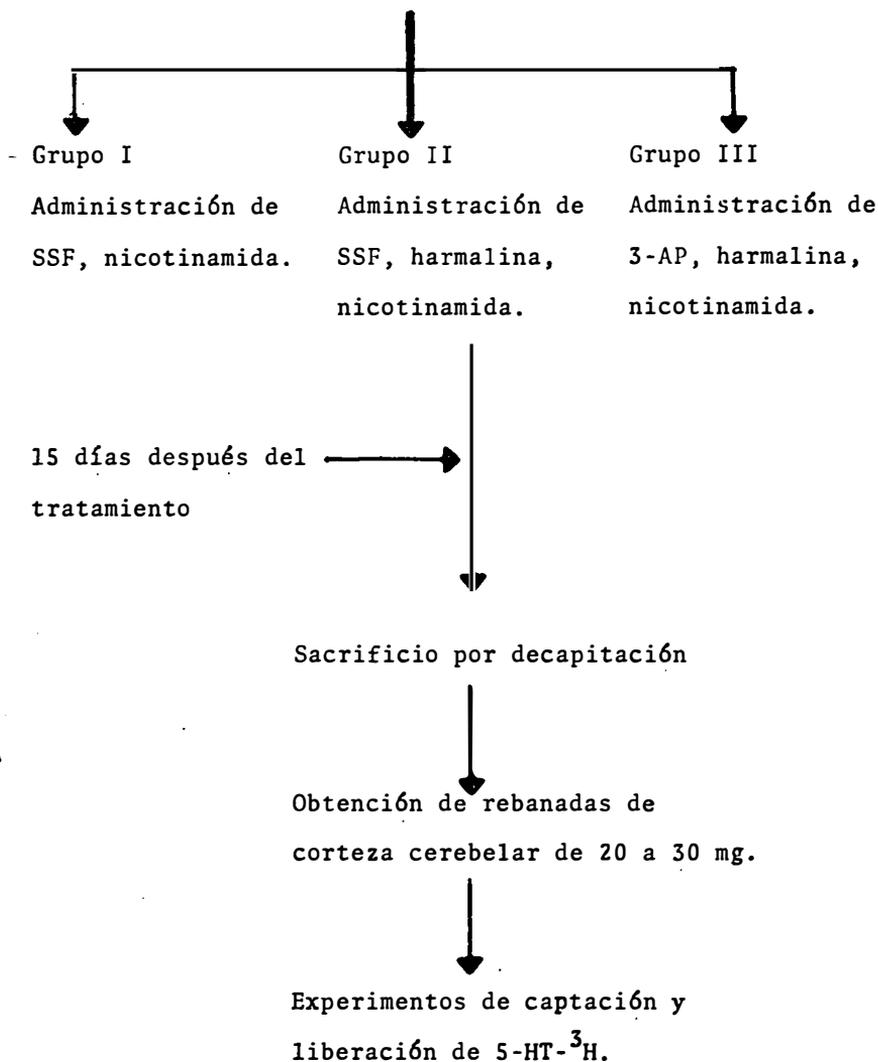
Los experimentos de liberación se llevaron a cabo de acuerdo al procedimiento descrito por Beas-Zárate y col. (41) - los cuales consistieron en lo siguiente: las muestras del tejido se incubaron en un medio Ringer-bicarbonato que además contenía 80 μ M de pargilina y 1 mM de ácido ascórbico durante 5 minutos.

Después de la preincubación se adicionó la 5-HT marcada a una concentración final de 0.1 μ M, la incubación se prolongó 10 minutos más y al término de este tiempo se tomaron alícuotas de 0.1 ml. para control radioactivo, la muestra se depositó en el sistema de filtración para obtener por succión el medio y se lavó con 15 ml. de medio Krebs-bicarbonato bajo en K^+ y sin Ca^{++} , el medio se extrajo por succión y a la muestra se le aplicaron 2 estímulos con 1 ml. cada uno de baja concentración de potasio con el propósito de obtener el valor basal. Posteriormente se estimuló con 1 ml. de medio con alta concentración de potasio en presen-

cia de calcio. La duración de cada pulso fue de 30 segundos a 37°C y cada lavado fue seguido por la aplicación de vacío durante 20 segundos. Se tomó 0.5 ml. de muestra de cada uno de los pulsos para contar radioactividad. Posteriormente se colectaron los filtros mas el tejido y se les agregó 5 ml. de tritosol y se contó 5-HT-³H liberada en cada uno de los estímulos.

DIAGRAMA 1

Ratas Cepa Wistar
(2 meses de edad)



RESULTADOS

Captación de serotonina.

Los resultados muestran una importante reducción de un 48% ($p < 0.02$) en la captación de serotonina bajo el efecto de la harmalina (grupo II) con respecto al testigo (grupo I) (Fig. 2), mientras que la 3-acetilpiridina (grupo III) produjo una reducción correspondiente al 62% en la captación de serotonina en cortes de cerebelo ($p < 0.001$) (Fig. 2). Al comparar los valores obtenidos entre el grupo II y III no se encontró diferencia estadísticamente significativa, a pesar de que la 3-AP redujo en un 12% la captación de serotonina respecto al grupo II (Fig. 2).

Cinética de captación.

Con el propósito de esclarecer el efecto de la harmalina respecto a la 3-AP en el fenómeno de captación de la serotonina en cerebelo, se efectuaron algunos experimentos para conocer si estos fármacos modifican las constantes cinéticas, K_m y V_{max} en dicho fenómeno.

Los resultados muestran una disminución en la V_{max} de un 30% bajo el efecto de la harmalina mientras que la K_m no se modifica en comparación con el testigo (grupo I) (tabla 1). Sin embargo, bajo el efecto de la 3-AP la V_{max} se redujo en un 62% y el valor de la K_m solo disminuyó en un 18% respecto al testigo (tabla 1). Al comparar los grupos II y

III, se observó en el grupo III una reducción en la V_{max} correspondiente al 45%, mientras que la K_m solo fué del 14% - con respecto al grupo II (tabla 1).

Liberación de serotonina.

En los resultados obtenidos en los tres grupos correspondientes a los niveles basales, es decir, al estímulo con bajo potasio, se observó que no existe ninguna diferencia estadísticamente significativa entre dichos grupos, por lo que se tomó el promedio de estos grupos como valor basal (Fig. 3).

En la Fig. 4 se observa que el estímulo despolarizante con alta concentración de potasio (53 mM) indujo la liberación de serotonina en proporción de solo el 1%, tanto en el grupo testigo como en el que se administró 3-AP, este valor es con respecto al valor basal, mientras que en el grupo II esta liberación fué del 5% en relación al valor basal.

DISCUSION.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la captación de serotonina, se establece una clara diferencia entre los grupos experimentales (II, III) con respecto al testigo. En los animales tratados con solución salina fisiológica, harmalina y nicotinamida (grupo II), la harmalina produce una disminución en la captación de serotonina con respecto al testigo (Fig. 2). Esta inhibición indica ser de tipo no competitivo ya que en los parámetros cinéticos se observa una Km semejante al testigo y una Vmax menor (30%) respecto al mismo grupo (tabla 1).

Sin embargo, bajo el efecto de la 3-acetilpiridina (grupo III) la disminución en la captación de serotonina respecto al grupo I y II, apoya nuestra hipótesis, lo que sugiere que parte de estas fibras podrían utilizar a la serotonina como posible transmisor en el cerebelo, aunque no se descarta la posibilidad de que la 3-acetilpiridina podría tener una acción un tanto cuanto inespecífica, es decir, que la 3-AP podría destruir parte de los núcleos reticulares gigantocelularis y paragigantocelularis, los cuales se ha demostrado recientemente que proveen la mayor parte de las aferencias serotoninérgicas al cerebelo (44) y que forman parte del tracto olivo-cerebeloso.

Con respecto a la liberación de serotonina, se observa que-

en los niveles basales no existe una diferencia significativa entre los tres grupos, ésto es de esperarse ya que en presencia de bajo potasio la célula funciona a niveles basales o mínimos. Sin embargo, bajo la despolarización con alta concentración de potasio se encontró un aumento significativo en la liberación de serotonina con respecto al valor basal en el grupo testigo. Este porcentaje de liberación de serotonina con alto potasio se puede considerar como normal, ya que en estudios realizados sobre la distribución y origen de serotonina en el cerebelo, se observa que la mayoría de las neuronas serotoninérgicas que se proyectan al cerebelo se restringen a pocos núcleos (9, 44), lo cual implica una baja concentración de serotonina en el cerebelo.

Sin embargo, en el grupo tratado con harmalina se obtuvo un aumento en el porcentaje de liberación de serotonina en presencia del estímulo con alto potasio. Esto se explica en función de que la harmalina inhibe las fibras serotoninérgicas que llegan a la oliva inferior (61), lo que produce un aumento en la frecuencia de disparo de las fibras trepadoras en el cerebelo, por lo tanto, si nuestra hipótesis es correcta, este aumento en la liberación, la inhibición en la captación (grupo II), el abatimiento casi completo de la captación y liberación de serotonina bajo el efecto de la 3-acetilpiridina (grupo III), fuertemente sugiere que parte de estas fibras liberan serotonina como neurotransmisor en el cerebelo.

Esto se apoya en el hecho de que la harmalina induce a través de las neuronas de la oliva inferior, impulsos sincrónicos y rítmicos, que activan a las células de Purkinje del cerebello (62, 63), por lo que éstas aumentan la frecuencia de 1 a 2, hasta 10 a 12 ciclos por segundo, de ahí que los animales presenten temblor después de la inyección intraperitoneal de harmalina, como una manifestación o respuesta a la hiperexcitación (61).

Otros estudios dan evidencias de que las inervaciones serotoninérgicas de la oliva inferior son de gran importancia en la inducción del temblor por la acción de la harmalina, y el efecto se reduce a las partes de la oliva que reciben densas entradas serotoninérgicas (61), lo que indica un efecto directo de la harmalina en las fibras serotoninérgicas.

En el grupo III, en los animales tratados con 3-AP, harmalina y nicotinamida, se observa que no hay diferencia significativa entre el valor obtenido con bajo potasio y el obtenido con el estímulo con alto potasio, con lo que es posible inferir que ésto ocurre por la destrucción o degeneración de las fibras trepadoras que liberan serotonina.

Esto se apoya en estudios realizados anteriormente en los cuales la 3-AP (antimetabolito de la nicotinamida) produce destrucción completa de la oliva bulbar inferior con la consecuente degeneración de las fibras trepadoras aferentes al cerebello (29, 37) y en ellos se señala que de los animales -

tratados con 3-AP solo sobreviven el 0.7% del total de células de la oliva bulbar inferior y éstas se encuentran localizadas principalmente en la región caudal del núcleo olivar. Mientras que la liberación de otros neurotransmisores en el cerebelo, tales como el glutamato, aspartato, glicina y - GABA, no se modifican bajo estas mismas condiciones (39).

Tomando en cuenta estos datos podemos deducir que a pesar de la baja inervación serotoninérgica en el cerebelo, hecho que se refleja en la liberación bajo estímulo despolarizante, la captación se afecta en forma importante por la 3-AP entonces la serotonina podría postularse como el neurotransmisor que liberan las fibras trepadoras a nivel del cerebelo.

CONCLUSION.

El aumento en la liberación de serotonina y la inhibición - en la captación de ésta por efecto de la harmalina (grupo - II), así como el abatimiento casi completo de la captación - y liberación de serotonina bajo el efecto de la 3-acetilpiridina (grupo III), sugieren que la serotonina es uno de los neurotransmisores liberados por las fibras trepadoras provenientes de la oliva bulbar inferior.

REFERENCIAS

1. Llinás, R.R. (1975). The cortex of the cerebellum. *Scientific American*. 190: 56-71.
2. López, A. (1983). Anatomía funcional del sistema nervioso. Limusa, México. Cap. 19: 437-461.
3. Larsell, O. (1937). The cerebellum. A review and interpretation. *Arch. Neur. Psychiat.* 38: 580-607.
4. Larsell, O. y Dow, R.S. (1935). The development of the cerebellum in the rat (*Corynorhinus* sp.) and certain others mammals. *J. Comp. Neur.* 62: 443-468.
5. Eccles J.C., Ito, M. y Szentágothai, J. (1967). The cerebellum as a neuronal machine springer verlag, New York.
6. Chang, H.T. (1951). Caudal extention of clarke's nucleus in the spider monkey. *J. Anat.* 83: 303-307.
7. Anderson, R.F. (1943). Cerebellar distribution of the dorsal and ventral spinocerebellar tracts in the white rat. *J. Comp. Neur.* 42: 393-456.
8. Grundfest, H. y Campbell, B. (1942). Origin, conduction and termination of impulses in the dorsal spino-cerebellar tract of cat. *J. Neurophysiol.* 5: 275-294.
9. Carrea, R.M.E. y Grundfest, H. (1954). Electrophysiological studies of cerebellar inflow I. Origin, conduction and termination of ventral spino-cerebellar tract in monkey and cat. *J. Neurophysiol.* 17: 208-238.
10. Oscarsson, O. y Uddenberg, N. (1964). Identification of a spinocerebellar tract activated for forclimb afferents in the cat. *Acta Physiol. Scand.* 62: 125-136.
11. Brodal, A. y Grant, G. (1962). Morphology and temporal course of degeneration in cerebellar mossy fibers following transection of spinocerebellar tracts in the cat. An experimental study with silver methods. *Exp. Neurol.* 5: 67-87.

12. Grant, G. (1962). Spinal course and somatotopically localized termination of the spinocerebellar tracts. An experimental study in the cat. *Acta Physiol. Scand.* 56 Sup. 193: 1-45.
13. Dow, R.S. (1939). Cerebellar potenciales in response to stimulation of varius afferent conections. *J. Neurophysiol.* 2: 543-555.
14. Szentágothai, J. y Rajkorits, K. (1959). Ueberden Ursprung der Kletterfasern des Kleinhirns. *Z. Anat. Entwickl. Gesch.* 121: 130-141.
15. Morin, F., Catalano, J. y Lindner, D. (1953). Spino-cerebellar proyections in the cat and monkey (macaca mulatta). *Anat. Rec.* 115: 350.
16. Grundfest, H. y Carter, W.B. (1954). Afferent relations of inferior olivary nucleus I. Electrophysiological demonstration of dorsal spino- olivary tract in the cat. *J. Neurophysiol.* 17: 72-91.
17. Brodal, A. y Pompeiano, O. (1957). The vestibular nuclei in the cat. *J. Anat. (Londres)*. 91: 438-454.
18. Dow, R.S. (1936). The fiber conections of the posterior parts of the cerebellum in the cat and rat. *J. Comp. Neur.* 63: 527-548.
19. Combs, C.M. (1956). Bulbar regions related to localized cerebellar afferents impulses. *J. Neurophysiol.* 19: 285-300.
20. Snyder, R.S. (1936). Alterations wich occur in mossy terminals of the cerebellum following transection of brachium pontis. *J. Comp. Neur.* 64: 417-435.
21. Jansen, J. y Brodal, A. (1940). Experimental studies on the intrinsec fibers of the cerebellum. II. The cortico-nuclear proyection. *J. Comp. Neur.* 73: 267-321.
22. Szentágothai, J. y Rajkovits, K. (1959). En: The cerebellum as a neuronal machine. Eccles, J.C., Ito, M. y Szentágothai, J. (Ed.) Springer Verlag, New York. pp. 37-38.

23. Scheibel, M.E. y Scheibel, A.B. (1954). Observation of the intracortical relations of the climbing fibers of the cerebellum. *J. Comp. Neur.* 101: 733-760.
24. Walberg, F. y Jansen, J. (1961). Cerebellar cortico-vestibular fibers in the cat. *Exp. Neurol.* 3: 32-52.
25. Dow, R.S. y Moruzzi, G. (1958). The physiology and the pathology of the cerebellum. Univ. of Minnesota press, Minneapolis.
26. Moruzzi, G. (1950). Problems in cerebellar physiology. Charls, C. Thomas, Springfield.
27. Moruzzi, G. (1941). Sur rapporti fra cervelletto e corteccia cerebrale. III Mecanismi e localizzazione delle azioni: inhibitrice e dinamogene del cervelletto. *Arch. Fisiol.* 41: 183-206.
28. Hagbarth, K.E. y Kerr, D.I.B. (1954). Central influences on spinal afferent conduction. *J. Neurophysiol.* 17: 295-307.
29. Toggenburger, G., Wiklund, L., Henke, H. y Cuénod, M. (1983). Release of endogenous and accumulated exogenous amino acids from slices of normal and climbing fibre-deprive rat cerebellar slices. *J. Neurochem.* 41: 1606-1613.
30. Beas-Zárate, C. (1983). Evaluación de la serotonina (5-HT) como neurotransmisor en la corteza cerebelar de la rata. Univ. de Guad. Escuela de Graduados. Tesis de Maestría. p. 25.
31. Hudson, D.B., Valcana, T., Bean, G. y Timiras, P.A. (1976). Glutamic acid: a strong candidate as the neurotransmitter of the cerebellar granule cells. *Neurochem. Res.* 1: 73-81.
32. Sandoval, M.E. y Cotman, C.W. (1978) Evaluation of glutamate as neurotransmitter of cerebellar parallel fibers. *Neurosci.* 3: 199-206.

33. Sandoval, M.E., Feria, V.A. y Espinosa, O.R. (1979). Glutamic acid: Possible transmitter of the cerebellar parallel fibers. *Trans. Am. Soc. Neurochem.* 10: 117.
34. Rohde, B.H., Rea, M.A., Simon, J.R. y McBride, W.J. (1979). Effects of X-irradiation induced loss of cerebellar granule cells on the synaptosomal levels and the high affinity uptake of amino acids. *J. Neurochem.* 32: 1431-1435.
35. Young, A.B., Oster-Granite, M.L. Herndon, R.M. y Snyder, S.H. (1974). Glutamic acid: Selective depletion by viral induced granule cells loss in hamster cerebellum. *Bram Res.* 73: 1-13.
36. Roberts, E. y Hammerschlag, R. (1976). Amino acid transmitters. En: *Neurochemistry Basic*. Siegel, G.J., Albers, R.W., Katzman, R. y Agranoff, B.W. (Eds.) Little, Brown and Company. Boston pp. 224-226.
37. Rea, M.A., McBride, W.J. y Rohde, B.H. (1980). Regional and synaptosomal levels of amino acid neurotransmitters in the 3-acetylpyridine deafferentated rat cerebellum. *J. Neurochem.* 34 (5): 1106-1108.
38. Tapia, R. (1983). El ácido gama-aminobutírico. En: *Aminoácidos y péptidos en la integración de funciones nerviosas*. Pasantes, M. H., Aréchiga, H. Universidad Nacional Autónoma de México. Cap. 3.
39. Salceda, R. (1983). Glicina. En: *Aminoácidos y péptidos en la integración de funciones nerviosas*. Pasantes, M.H. Aréchiga, H. UNAM. Cap. 4.
40. López, C.A.M. (1983). Acidos glutámico y aspártico. En: *aminoácidos y péptidos en la integración de funciones nerviosas*. Pasantes, M.H., Aréchiga, H. UNAM. Cap. 6.
41. Beas-Zárate, C., Sandoval, M.E. y Feria, V.A. Serotonin uptake and release from rat cerebellum *In vitro*. *J. Neuroscience Res.* 12: 129-136.
42. Iversen, L.L. (1971). Role of transmitter uptake mechanisms in synaptic neurotransmission. *Brit. J. Pharmac.*

Chem. Ther. 41: 571-591.

43. Fagg, G.E. y Lane, J.D. (1979). The uptake and release of putative amino acid neurotransmitter. *Neurosci.* 4: 1015-1036.
44. Bishop, G.A. y Ho, R.H. (1984). The distribution and origin of serotonin immunoreactivity in the rat cerebellum. *Brain Res.* 331: 195-207.
45. Beaudet, A. y Sotelo, C. (1981). Synaptic remodeling of serotonin axon terminals in rat agranular cerebellum. *Brain Res.* 206: 305-329.
46. Chan-Palay, V. (1975). Fine structure of labelled axons in the cerebellar cortex and nuclei of rodents and primates after intraventricular infusions with tritiated serotonin. *Anat. Embryol.* 148: 235-265.
47. Chan-Palay, V., Jonsson, G. and Palay S. (1978). Serotonin and substance P coexist in neurons of the rat's central nervous system. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 75: 1582-1586.
48. Takeuchi, Y., Kimura, H. y Sano, Y. (1982). Immunohistochemical demonstration of serotonin-containing nerve fibers in the cerebellum. *Cell Tissue Res.* 226: 1-12.
49. Hökfelt, T. y Fuxe, K. (1969). Cerebellar monoamine nerve terminals, a new type of afferent fibers to the cortex cerebelli. *Exp. Brain Res.* 9: 63-72.
50. King, J.S., Ho, R.H. y Bishop, G.A. (1983). The distribution and development of serotonin in the opossum cerebellum. *Soc. Neurosci. Abstr.* 9: 3-18.
51. Bloom, F.E., Hoffer, B.J., Siggins, G.R., Barker, J.L. y Nicoll, R.A. (1972). Effects of serotonin on central neurons: microiontophoretic administration. *Fed. Proc.* 31: 97-106.
52. Strahlendorf, J.C., Strahlendorf, H.K. y Barnes, C.D. (1979). Modulation of cerebellar neuronal activity by raphe stimulation. *Brain Research.* 169: 565-569.

53. Cooper, R.J., Bloom, E.F. y Roth, H.R. (1982). The - - biochemical basis of neuropharmacology. New York, Oxford Fourth edition. Cap. 8 pp, 223-248.
54. Gerschenfeld, H.M. y Deterre, P. (1981). Neuronal responses to serotonin. En: Serotonin neurotransmission and behavior. Barryl., Jacobs (Eds). Cap. 3 pp. 106-108.
55. Chan- Palay, V. (1977). Cerebellar dentate nucleus. Springer-Verlag. Berlin, Herdelberg, New York.
56. Cooper, R.J., Bloom, E.F. y Roth, H.R. (1982). The biochemical basis of neuropharmacology. New York, Oxford. Fourth edition. pp. 177-178.
57. Freedman, R., Höffer, B.J. y Woodward, D.J. (1977). Interaction of norepinephrine with cerebellar activity evoked by mossy and climbing fibers. *Exp. Neur.* 55: 269-288.
58. Anden, N.E., Fuxe, K. y Ungerstedt, U. (1967). Monoamine pathway to the cerebellum and cerebellar cortex. *Experientia* 23: 238-239.
59. Jonhson, G., Fuxe, K., Hamberger, B. y Hokfelt, T. (1969). 6-hydroxytryptamine a new tool in monoamine fluorescence histochemistry. *Brain Res.* 3: 190-195.
60. Llinás, R., Walton, K. y Hillman, D.E. (1975). Inferior Olive: Its role in motor learning. *Science.* 190: 1230-1231.
61. Sjölund, B., Björklund, A. y Wiklund, L. (1977). The indolaminergic innervation of the inferior olive. 2. Relation to harmaline induced tremor. *Brain Res.* 131: 23-37.
62. Bernard, J.F., Buisseret-Delmas, C. y Laplante, S. (1984). Inferior olivary neurons: 3-acetylpyridine effects on glucose consumption, axonal transport, electrical activity and harmaline-induce tremor. *Brain. Res.* 322: 382-387.

63. Busy, L. y Lamarre, Y. (1980). Effect of diazepam on the neuronal rhythmic activity and tremor induced by harmaline. En: The inferior olivary nucleus: Anatomy and physiology. J. Courville et al (Eds). Raven Press New York. pp. 315-319.

TABLA I

La cinética de captación para la serotonina se llevó a cabo como se describe en el material y métodos. Se utilizaron 3 animales en cada grupo y las determinaciones se realizaron por duplicado.

La Km se expresa en: MicroMoles.

La Vmax se expresa en: picomoles por miligramo de proteína por 5 minutos.

* $p < 0.02$ comparando con el testigo.

‡ $p < 0.001$ comparando con el testigo.

■ $p < 0.02$ comparando con el grupo II.

TABLA I

Captación de serotonina en cortes de cerebelo bajo el efecto de la harmalina y la 3-acetilpiridina.

Condiciones experimentales	Km (μ M)	Vmax (pM/mg/5')
Solución salina fisiológica y nicotinamida	0.55	3.3
Solución salina fisiológica, harmalina y nicotinamida	0.525	2.3*
3-AP, harmalina, nicotinamida	0.45	1.25 \square

Fig. 1 Citoarquitectura de la corteza cerebelosa.

CM = Capa molecular

CCP = Capa de células de Purkinje

CG = Capa granulosa

C.Pu = Célula de Purkinje

C.Go = Célula de Golgi

c.g = Célula granulosa

c.e = Célula estrellada

c.c = Célula en canasta

f.t = Fibra trepadora

f.m = Fibra musgosa

En el círculo se presenta la estructura esquemática de dos glomérulos cerebelosos (en los círculos pequeños).

CORTEZA CEREBELOSA.

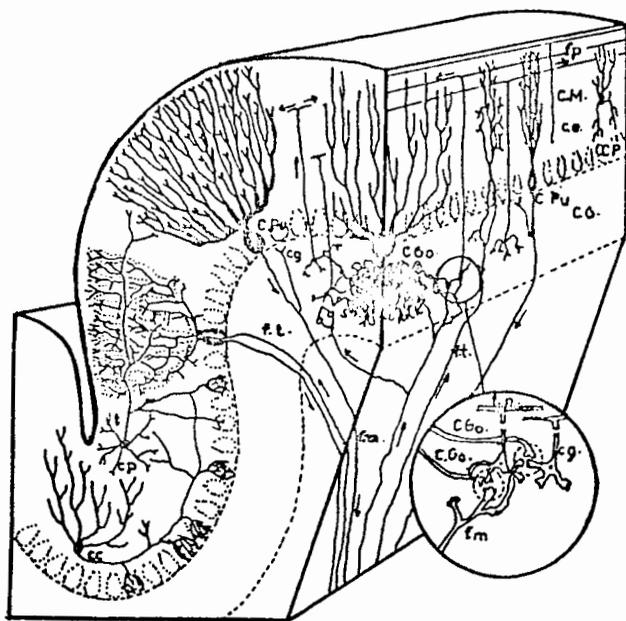


Fig. 2 CAPTACION DE SEROTONINA

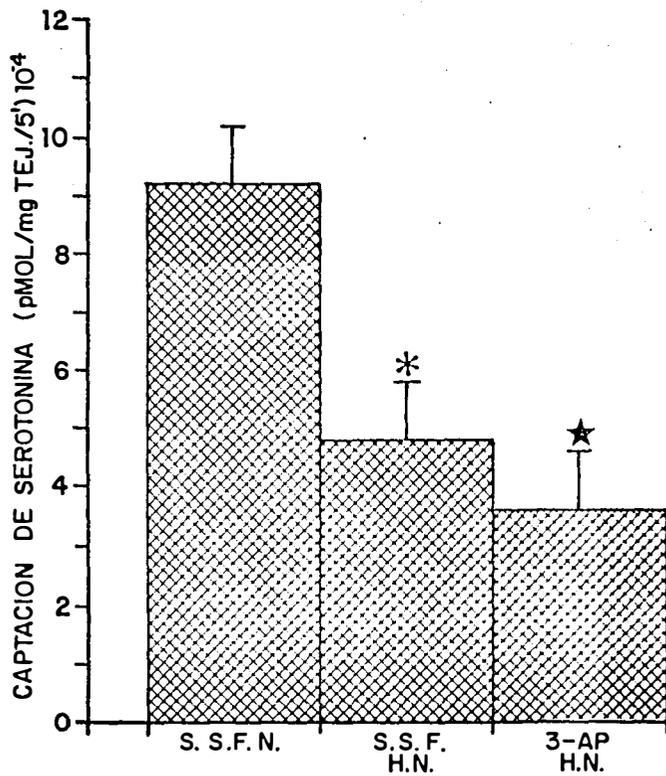
Captación de serotonina en cortes de cerebelo después de la administración de diferentes fármacos. Cada valor representa la media \pm E.E.M. con una $n = 5$ para cada grupo.

Grupo I (testigo); se le administró solución salina fisiológica (S.S.F.) y nicotinamida (N).

Grupo II Se le administró solución salina fisiológica, nicotinamida y harmalina (H).

Grupo III Se le administró 3-acetilpiridina (3-AP), harmalina y nicotinamida.

Significativamente diferente del testigo $\star p < 0.001$; $\ast p < 0.02$.



* $P < 0.02$

★ $P < 0.001$

Fig. 3 . LIBERACION DE SEROTONINA BAJO EL ESTIMULO
CON BAJA CONCENTRACION DE POTASIO (K^+).

Liberación de serotonina en cortes de cerebelo después de la administración de diferentes fármacos, cada valor representa la media \pm E.E.M. con una n = 11 para el grupo I; n = 14 grupo II y n = 10 grupo III.

Se observa que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los tres grupos.

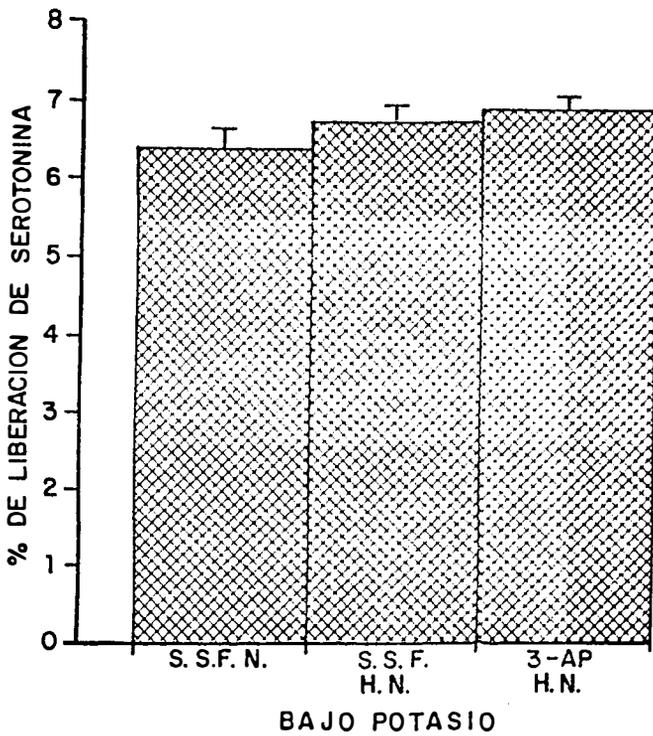
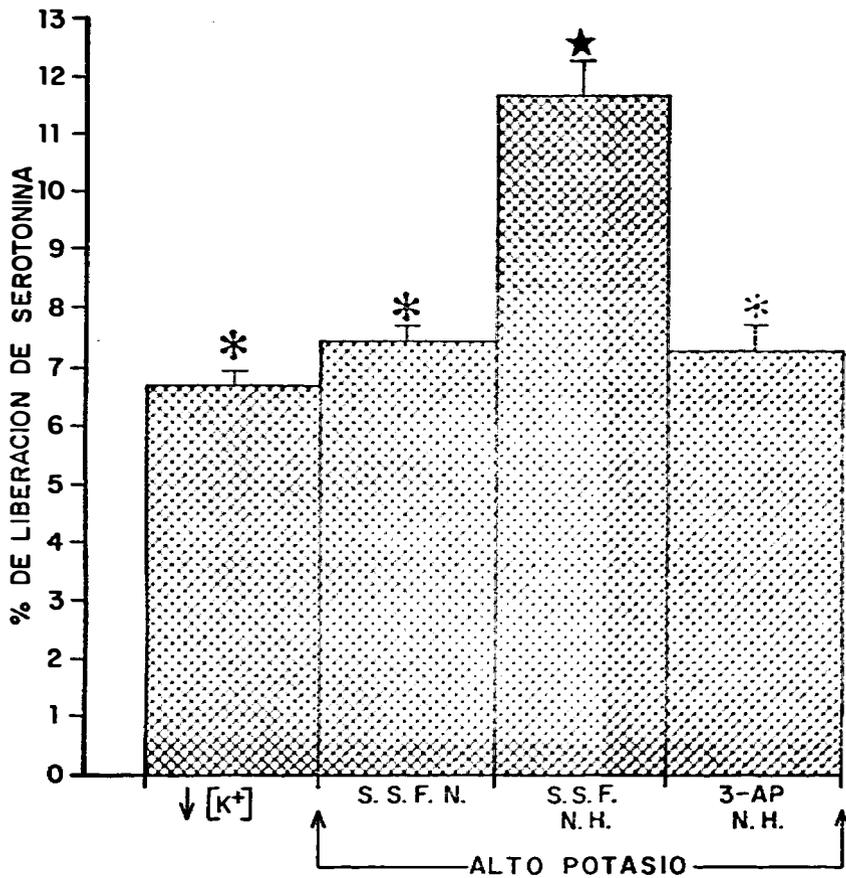


Fig. 4 LIBERACION DE SEROTONINA BAJO EL ESTIMULO
CON ALTA CONCENTRACION DE POTASIO (K^+).

Liberación de serotonina en cortes de cerebelo después de la administración de diferentes fármacos, cada valor representa la media \pm E.E.M. de una $n = 11$ para el grupo I, $n = 14$ grupo II y $n = 10$ grupo III.

Significativamente diferente respecto al valor basal a una
 $*p < 0.02$; $\star p < 0.001$



* $p < 0.02$
 ★ $p < 0.001$

Srta. Aurora Rosas Ramirez
Presente. -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "Efecto de la 3 Acetilpiridina (3-AP) sobre la captación y liberación de Serotonina (5-HT) en el cerebelo de la rata" para obtener la Licenciatura en Biología con Orientación Biomédica.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis el M. en C. Carlos Beas Zarate.



FACULTAD DE CIENCIAS

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal., Mayo 26 de 1986

El Director

Dr. Carlos Asienjo Osuna

El Secretario

Arg. Mario Patricio Castillo Paredes.

c.c.p. El M. en C. Carlos Beas Zarate, Director de Telés.-Pte.
c.c.p. El expediente del alumno

'mjsd

4 de Marzo de 1987

DR. CARLOS ASTENGO OSUNA
DIRECTOR DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS.
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

P R E S E N T E:

Por medio de este conducto comunico a usted que la Srita. AURORA ROSAS RAMIREZ pasante de la Licenciatura en Biología, ha concluído satisfactoriamente el trabajo de tesis titulado: " EFECTO DE LA 3-AP (3-Acetil-piridina) SOBRE LA CAPTACION Y LA LIBERACION DE SEROTONINA (5-HT) EN EL CEREBELO DE LA RATA ", realizado en el Laboratorio de Neuroquímica (Area de Investigación) de ésta Facultad a su digno cargo.

Asimismo, le informo que dicha tesis estuvo bajo mi asesoría y dirección, por lo que después de revisar el manuscrito final, éste cumple con los requisitos actualmente solicitados por la Facultad de Ciencias.

Sin más por el momento aprovecho la oportunidad para saludarlo y quedo de usted.

A T E N T A M E N T E


M. en C. CARLOS BEAS ZARATE