UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

*Facultad de Medicina
Departamento de Biología
Celular y Patología*

*Instituto de Neurociencias de
Castilla y León (INCYL).
Laboratorio de Neuroanatomía de
los Sistemas Peptidérgicos*

DISTRIBUCIÓN DE NEUROPEPTIDOS EN EL TRONCO DEL ENCÉFALO DEL HOMBRE Y DEL MONO (*Saimiri sciureus*): ESTUDIO INMUNOCITOQUÍMICO

EWING DUQUE DÍAZ

ABRIL 2009

**DISTRIBUCIÓN DE NEUROPEPTIDOS EN EL TRONCO
DEL ENCÉFALO DEL HOMBRE Y DEL MONO (*Saimiri
sciureus*): ESTUDIO INMUNOCITOQUÍMICO**

TRABAJO REALIZADO POR EL LICENCIADO
EWING DUQUE DÍAZ PARA ASPIRAR AL
GRADO DE DOCTOR EN NEUROCIENCIAS

SALAMANCA, ABRIL DE 2009

Rafael Coveñas Rodríguez, profesor titular de Biología Celular de la Facultad de Biología de la Universidad de Salamanca y miembro del Instituto de Neurociencias de Castilla y León (INCYL)

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado “*Distribución de Neuropeptidos en el Tronco del Encéfalo del Hombre y del Mono (Saimiri sciureus): Estudio Inmunocitoquímico*”, ha sido realizado por D. **Ewing Rafael Duque Díaz** en el Departamento de Biología Celular y Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca y en el Laboratorio de Neuroanatomía de los Sistemas Peptidérgicos del Instituto de Neurociencias de Castilla y León (Laboratorio 14, INCYL), bajo mi dirección, y considero que reúne las condiciones necesarias para ser defendido y optar al grado de doctor.

Salamanca , Abril de 2009

Julio Villalobos Talero, profesor titular de Morfología y coordinador del grupo de Neurociencias de la Facultad de Medicina de la Universidad del Valle. Cali-Colombia

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado “*Distribución de Neuropéptidos en el Tronco del Encéfalo del Hombre y del Mono (Saimiri sciureus): Estudio Inmunocitoquímico*”, ha sido realizado por D. **Ewing Rafael Duque Díaz** en el Departamento de Biología Celular y Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca y en el Laboratorio de Neuroanatomía de los Sistemas Peptidérgicos del Instituto de Neurociencias de Castilla y León (Laboratorio 14, INCYL), bajo mi codirección, y considero que reúne las condiciones necesarias para ser defendido y optar al grado de doctor.

Salamanca , Abril de 2009

Esta tesis se la dedico a Dios...

A mi padre, madre y hermanos...

*En especial a Luz Amalia y Samuel, por
soportar mi ausencia durante estos años*

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones que de una u otra forma hicieron parte de este proyecto, en especial:

Al Profesor Dr. Rafael Coveñas Rodríguez, porque además de mi profesor y mi guía fue mi amigo durante todo este proceso académico ¡Gracias Rafael!

Al Profesor Julio Villalobos Talero (Q.E.P.D), por su valiosa colaboración y apoyo tanto en la codirección del trabajo como en la etapa de experimentación.

A la Fundación Carolina y a la Universidad Pontificia Bolivariana (UPB) – Montería, por creer en mí, concediéndome la beca que permitiría cursar los estudios doctorales.

Al Instituto de Neurociencias de Castilla y León, por abrirme las puertas y brindarme las herramientas para desarrollar esta tesis doctoral, y especialmente a su director, el Profesor Miguel Merchán.

A la profesora Elena Vecino y al profesor F. David Rodríguez por sus orientaciones científicas y por su apoyo en el proceso de incorporación al laboratorio de neuroanatomía de los sistemas peptidérgicos.

Al Dr. D. Arturo Mangas Martín, por el apoyo recibido durante el entrenamiento en la técnica de inmunocitoquímica y en el manejo de programas de edición de fotografía.

Al profesor Gérard Tramú de la Universidad de Burdeos I por aportar generosamente los anticuerpos utilizados.

A los profesores José Angel Narváez y Pablo Salinas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Málaga quienes consiguieron los troncos de encéfalos humanos.

Al profesor Sixto Bermudez, quien además de un colega es un amigo, gracias por el apoyo que me ha brindado desde mi vinculación a la UPB-Montería.

A Eliana, Jeimy, Luisfer, Elías, Wendy y Raúl, por brindarme su apoyo en los momentos que más lo necesité.

A todos aquellos que han hecho posible la elaboración de esta tesis, profesores, amigos, y tantos otros cuyos nombres no se encuentran reflejados ya que la lista sería interminable...

Este trabajo ha sido subvencionado por la D.G.I.C.Y.T. (BFU2005-02241/BFI).

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	16
1. El Tronco del Encéfalo.....	17
2. Neuropeptidos.....	19
2.1 Filogenia.....	22
2.2 Ontogenia	23
2.3 Familia de neuropeptidos	23
2.4 Biosíntesis y procesamiento de los neuropeptidos	24
2.5 Receptores de neuropeptidos.....	25
2.6 Peptidasas.....	26
2.7 Distribución de los neuropeptidos en el sistema nervioso central de mamíferos	27
3. Neuropeptidos en el tronco del encéfalo del hombre y del mono (<i>Saimiri sciureus</i>)	30
3.1 α -Neo-endorfina	30
3.2 Neuroquinina B.....	31
3.3 Leucina-Encefalina-(Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu)	32
3.4 Hormona adrenocorticotropa (18-39) (ACTH).....	33
3.5 Metionina-Encefalina-(Try-Gly-Gly-Phe-Met).....	34
3.6 Sustancia P	35
3.7 Somatostatina-28 (1-12).....	36
3.8 Péptido Relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP).....	39
II. MATERIAL Y METODOS.....	41
1. Procedimiento Experimental en el Hombre	42
1.1 Perfusión y obtención de secciones	42
1.2 Técnica Inmunocitoquímica.....	43
1.3 Obtención y Especificidad de los Anticuerpos.....	44
A. α - neo-endorfina.....	45
B. Neuroquinina B	45
1.4 Atlas Estereotáxico	46
1.5 Densidad de las Fibras y los Somas inmunoreactivos	46
1.6 Obtención de la Iconografía	47
2. Procedimiento Experimental en el Mono (<i>Saimiri sciureus</i>)	47
2.1 Perfusión y obtención de secciones	48
2.2 Técnica Inmunocitoquímica.....	48
2.3 Obtención y Especificidad de los Anticuerpos.....	50
A. Leucina-encefalina	51
B. Hormona adrenocorticotrópica (18-39).....	51
C. Metionina-encefalina.....	51
D. Sustancia P.....	52
E. Somatostatina-28 (1-12)	52
F. Péptido Relacionado con el gen de la Calcitonina (CGRP)	52
2.4 Atlas Estereotáxico	52
2.5 Densidad de las Fibras y los Somas inmunoreactivos	52
2.6 Obtención de la Iconografía	53
III. RESULTADOS	54
1 Distribución de α -neo-endorfina en el tronco del encéfalo del hombre.....	56

1.1	Distribución y Morfología.....	56
a.	Distribución.....	56
b.	Morfología.....	58
c.	Estudio semicuantitativo.....	59
2	Distribución de neuroquinina B (NKB) en el tronco del encéfalo del hombre.....	61
2.1	Distribución y Morfología.....	61
a.	Distribución.....	61
b.	Morfología.....	62
c.	Estudio semicuantitativo.....	63
3	Distribución de leucina-encefalina- (Try-Gly-Gly-Phe-Leu) en el tronco del encéfalo del mono (<i>Saimiri sciureus</i>).....	67
3.1	Distribución y Morfología.....	67
a.	Distribución.....	67
b.	Morfología.....	69
c.	Estudio semicuantitativo.....	69
4	Distribución de hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en el tronco del encéfalo del mono (<i>Saimiri sciureus</i>).....	72
4.1	Distribución y Morfología.....	72
a.	Distribución.....	72
b.	Morfología.....	73
c.	Estudio semicuantitativo.....	73
5	Distribución de metionina-encefalina-(Try-Gly-Gly-Phe-Met) en el tronco del encéfalo del mono (<i>Saimiri sciureus</i>).....	76
5.1	Distribución y Morfología.....	76
a.	Distribución.....	76
b.	Morfología.....	78
c.	Estudio semicuantitativo.....	78
6.	Distribución de sustancia P en el tronco del encéfalo del mono (<i>Saimiri sciureus</i>).....	81
a.	Distribución y Morfología.....	81
a.	Distribución.....	81
b.	Morfología.....	82
c.	Estudio semicuantitativo.....	83
7.	Distribución de somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo del mono (<i>Saimiri sciureus</i>).....	85
a.	Distribución y Morfología.....	85
a.	Distribución.....	85
b.	Morfología.....	87
c.	Estudio semicuantitativo.....	88
8.	Distribución del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) en el tronco del encéfalo del mono (<i>Saimiri sciureus</i>).....	90
a.	Distribución y Morfología.....	90
a.	Distribución.....	90
b.	Morfología.....	91
c.	Estudio semicuantitativo.....	92
IV.	ABREVIATURAS UTILIZADAS EN LAS FIGURAS 1 – 8.....	100
1.	Hombre.....	101
2.	Mono (<i>Saimiri sciureus</i>).....	108
V.	ICONOGRAFÍA.....	114

VI. DISCUSIÓN	142
1. Distribución de neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre.....	143
1.1 α -neo-endorfina	143
1.2 Neuroquinina B (NKB).....	144
2. Relación anatómica de los neuropéptidos α -neo-endorfina y neuroquinina B con otros neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre.....	146
3. Distribución de neuropéptidos en el tronco del encéfalo del mono (<i>Saimiri sciureus</i>)	147
4. Relación anatómica entre los seis neuropéptidos estudiados en el tronco del encéfalo del mono <i>Saimiri sciureus</i>	148
5. Comparación de la distribución de neuropéptidos en el tronco del encéfalo del mono <i>Saimiri sciureus</i> con otros mamíferos	149
5.1 Encefalinas: leucina-encefalina y metionina-encefalina.....	150
5.2 Hormona adrenocorticotrópica (18-39) (ACTH)	153
5.3 Sustancia P	157
5.4 Somatostatina-28 (1-12).....	160
5.5 Péptido Relacionado con el Gen de la Calcitonina (CGRP).....	163
6. Acciones fisiológicas de los neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre y del mono (<i>Saimiri sciureus</i>)	166
7. Futuro de las investigaciones sobre los neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre y de <i>Saimiri sciureus</i>	170
VII. CONCLUSIONES	172
VIII. BIBLIOGRAFIA	175

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DE LA TESIS DOCTORAL

La tesis está fundamentada en los resultados que hemos obtenido tras la investigación de los siguientes ocho neuropeptidos en el tronco del encéfalo del hombre y del mono ardilla (*Saimiri sciureus*), usando la técnica de inmunocitoquímica indirecta: α -neo-endorfina, neuroquinina B, leucina-enkefalina-(Try-Gly-Gly-Phe-Leu), hormona adrenocorticotropa (18-39) (ACTH), metionina-enkefalina-(Try-Gly-Gly-Phe-Met), sustancia P, somatostatina 28 (1-12) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). Este trabajo comenzó a concebirse y desarrollarse en su etapa experimental en Enero de 2006. Así mismo esta investigación fue concebida como complemento a las investigaciones que el Laboratorio de Neuroanatomía de los Sistemas Peptidérgicos del Instituto de Neurociencias de Castilla y León (INCYL, Laboratorio 14) y otros laboratorios de otras universidades de Europa y Latinoamérica están llevando a cabo desde la década de los ochenta. Además, trabajar con una especie de primates no humanos endémica de Suramérica (presente en Colombia) como el mono ardilla (*Saimiri sciureus*), permite establecer comparaciones con el trabajo ya desarrollado por el Laboratorio de Neuroanatomía de los Sistemas Peptidérgicos del INCYL, sobre la distribución de neuropeptidos en otra especie de primate (mono cangrejo (*Macaca fascicularis*)). Los profesores que han venido colaborando en la línea de investigación sobre la distribución de neuropeptidos en el sistema nervioso central de mamíferos (gato, rata, cobaya, perro, alpaca, mono y hombre) pertenecen al Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Málaga; al Departamento de Ciencias Morfológicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla; al Departamento de Anatomía de la Facultad de

Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela; al Departamento de Ciencias Médicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Castilla-La Mancha (Albacete); al Laboratorio de Neuroanatomía de Señales Intercelulares del Instituto de Neurociencias de la Universidad Pierre et Marie Curie, CNRS UMR 7624, París VI (Francia); al Laboratorio de Neurocitoquímica Funcional, URA 339, CNRS, de la Universidad de Burdeos I (Francia); al Departamento de Neurociencias del Instituto Karolinska, Estocolmo (Suecia); al grupo de Neurociencias de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle (Colombia); y a las Facultades de Veterinaria y Medicina de la Universidad Peruana “Cayetano Heredia” (Lima, Perú).

La distribución de neuropéptidos en el sistema nervioso central de mamíferos, mediante la aplicación de técnicas inmunocitoquímicas, viene realizándola nuestro grupo de investigación desde el año 1983. Hasta hoy hemos descrito en el sistema nervioso central de mamíferos la distribución de fibras y somas que contienen neuropéptidos pertenecientes a numerosas familias de neuropéptidos (péptido liberador de gastrina, colecistoquinina, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, neuropéptido Y, neurotensina, oxitocina, somatostatina, taquiquininas (neuroquinina A, sustancia P), opiáceos (metionina-enkefalina, metionina-enkefalina-8, alfa-neo-endorfina, beta-endorfina, dinorfina A), hormona adrenocorticotrópica, hormona estimulante de los melanocitos, galanina, hormona liberadora de la hormona luteinizante, angiotensina II y factor liberador de corticotropina. Estos estudios fueron realizados en rata, cobaya, gato, perro, mono y hombre. Estos trabajos han aportado, principalmente, datos pioneros sobre la presencia de fibras y somas con neuropéptidos en el sistema nervioso central de mamíferos en general y/o en una determinada especie

en particular (Conrath et al., 1986; Coveñas et al., 1986, 1988, 1989, 1990a, b, c, 1993, 1994, 1996a, b, c, 1997, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003a, b, 2004, 2008; Burgos et al., 1988; Aguirre et al., 1989 a,b; Fuxe et al., 1990; de León et al., 1991a, b, c; 1992a, b, 1994; Marcos et al., 1993a, b, 1994a, b, c; 1996, 1997, 1998; Velasco et al., 1993; Vázquez et al., 1998; Samsam et al., 1999, 2000, 2001; Belda et al., 2000, 2003; Pego-Reigosa et al., 2000, 2001; Pesini et al., 2001, 2004; Martín et al., 2003; Aguilar et al., 2004; Cuadrado et al., 2005; Sánchez et al., 2005, 2007; Díaz-Cabiale et al., 2008). Entre otras aplicaciones, estos trabajos abren la puerta a los fisiólogos, para que estudien en determinadas zonas del sistema nervioso central las acciones que puedan ejercer los neuropeptidos.

De acuerdo con la bibliografía, sabemos que otros autores han estudiado la presencia de neuropeptidos en el tronco del encéfalo del mono y del hombre aplicando técnicas inmunocitoquímicas. Así, se ha descrito la presencia de somas y fibras inmunoreactivas con beta-endorfina, metionina-encefalina-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸, somatostatina 28 (1-12), neurotensina, α -neo-endorfina, ACTH, neuroquinina A, sustancia P, CGRP y la hormona estimulante de los melanocitos (α -MSH), (Cooper et al., 1981; Khachaturian et al., 1984; Pittius et al., 1984; Bouras et al., 1987; Mai et al., 1987; Chigr et al., 1989; Ibuki, et al., 1989; Zaphiropoulos et al., 1991; Coveñas et al., 2003a; 2004; 2008).

Esta tesis doctoral está basada en una pormenorizada consulta bibliográfica, relacionada con los diferentes estudios en cuanto a la distribución de fibras y somas inmunomarcados con los diferentes neuropeptidos en el tronco del encéfalo del hombre

y del mono ardilla (*Saimiri sciureus*), así como también de otras especies de mamíferos (rata, gato, perro y alpaca). Es importante indicar que el estudio de la distribución de neuropéptidos en el sistema nervioso central de mamíferos se remonta a los años ochenta, sin embargo actualmente se desconoce la distribución de numerosos neuropéptidos en el sistema nervioso central de primates (humanos y no humanos). Según lo indicado, hemos centrado nuestro estudio en describir por primera vez la distribución de α -neo-endorfina y neuroquinina B (NKB) en tronco del encéfalo del hombre y de leucina-enkefalina, ACTH, metionina-enkefalina, sustancia P, somatostatina-28 (1-12) y CGRP en el tronco del encéfalo del mono ardilla (*Saimiri sciureus*), tras aplicar una técnica inmunocitoquímica.

Además, justificamos la realización de esta tesis doctoral como complemento de los trabajos de investigación ya publicados, por nuestro grupo, sobre los neuropéptidos en el sistema nervioso central de varios mamíferos, así como para ampliar los conocimientos sobre los neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre y del mono ardilla (*Saimiri sciureus*).

En este trabajo recogemos los datos más significativos publicados por otros estudios sobre la distribución de neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre y de primates no humanos. Esos trabajos serán utilizados en la discusión y nos permitirán comparar la distribución de los neuropéptidos estudiados aquí con los ya descritos en otras especies.

En resumen, en esta tesis nos hemos propuesto los siguientes objetivos:

1. Estudiar, tras aplicar una técnica inmunocitoquímica, la distribución de somas y/o fibras inmunomarcadas con alfa-neo-endorfinay neuroquinina B en el tronco del encéfalo del hombre
2. Estudiar, tras aplicar una técnica inmunocitoquímica, la distribución de somas y/o fibras inmunomarcadas con leucina-encefalina, ACTH, metionina-encefalina, sustancia P, somatostatina-28 (1-12) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el tronco del encéfalo del mono ardilla (*Saimiri sciureus*).

I. INTRODUCCIÓN

1. El Tronco del Encéfalo

Esta estructura, en la que hemos centrado nuestro estudio, se deriva embriológicamente de la vesícula mesencefálica (Shepherd, 1988). Está dividida desde la región más caudal a la más rostral en tres regiones: el bulbo raquídeo (médula oblonga o mielencéfalo), la protuberancia (metencéfalo) y el mesencéfalo. El tronco del encéfalo se caracteriza por ser una extensión rostral de la médula espinal que recibe aferencias somáticas y viscerales, y emite eferencias motoras. Además, contiene a la ***formación reticular*** que presentan grupos de neuronas que se proyectan e influyen sobre muchas zonas del sistema nervioso central. La formación reticular y los núcleos específicos (agrupamiento de somas neuronales) del tronco del encéfalo intervienen en numerosas e importantes acciones como: sueño, vigilia, dolor, analgesia, procesos visuales y auditivos, control motor, mecanismos cardiovasculares, respiración, comportamiento sexual, atención, dilatación de las pupilas, entre otras (Martin, 1998).

En el tronco del encéfalo se originan gran parte de los doce pares craneales que inervan la cabeza, el cuello y los órganos sensoriales, los cuales a su vez llevan información sensorial y motora. Un ejemplo de ello es el nervio trigémino (V par) que lleva la información sensitiva (tacto-presión, dolor, frío, calor, propiocepción (receptores musculares tendinosos)) de la cara, de la mucosa de la cavidad oral, de dos tercios de la lengua y de la pulpa dental. Además, el trigémino lleva la información motora, pues por él transcurren los axones que inervan a los músculos de la masticación y al músculo tensor del tímpano (ver Coveñas et al, 2007)

Esquema 1: Diagrama del tronco del encéfalo. **A)** Sección a nivel del tubérculo cuadrigémino anterior. **B)** Sección a nivel del núcleo del sexto par. Tomado de: López et al (1997).

2. Neuropeptidos

Son moléculas formadas por cadenas cortas de aminoácidos (generalmente menos de 100 que se sintetizan en las células nerviosas (Coveñas et al., 2007). Además son sustancias neuroactivas que pueden actuar como neurotransmisores, neuromoduladores y neurohormonas (Mangas et al., 2007). Así, la liberación de un determinado neuropeptido al espacio extracelular a partir de una neurona peptidérgica, implica que el neuropeptido puede ejercer:

1. Una acción paracrina (neuromoduladora). El neuropeptido se une a sus receptores localizados en el componente postsináptico situado algo alejado del lugar en donde se liberó (es la transmisión por volumen).
2. Una acción autocrina (neuromoduladora). El neuropeptido se une a los autoreceptores localizados en el componente presináptico. De esta forma, controla la liberación del mismo neuropeptido a partir del componente presináptico.
3. Una acción neurotransmisora (se une a receptores localizados en el componente postsináptico próximo); es la denominada sinapsis química.
4. Una acción fisiológica muy alejada del lugar en donde se liberó (sangre o líquido cefalorraquídeo) (neurohormona).

Los neuropeptidos están ampliamente distribuidos por el sistema nervioso central de mamíferos (Pego-Reigosa et al., 2000; Coveñas et al., 2001, 2002, 2003a,b, 2004, 2008; Pesini et al., 2004; Mangas et al., 2007) y están involucrados en numerosas

acciones fisiológicas tales como: ingesta de alimentos y de líquidos, termorregulación, analgesia, nocicepción, ansiedad, control neuroendocrino, regulación gastrointestinal, regulación del sistema inmune, inflamación, regulación del páncreas y de los riñones, controlan la liberación de los neurotransmisores clásicos, así como también intervienen en el comportamiento reproductor, mecanismos cardiovasculares, respiratorios, auditivos y visuales, ejercen una acción antimicrobiana, ejercen acciones neurotróficas, actúan como neuroprotectores, ejercen una acción mitogénica sobre las células tumorales e intervienen en la memoria y en el aprendizaje (Saito et al., 2001; Muñoz et al., 2005; Coveñas et al., 2007a, b).

Carnosina

Hormona liberadora de tirotrópina (TRH)

Met-Enkefalina

Leu-Enkefalina

Sustancia P

Neurotensina

Somatostatina

B-Endorfina

Esquema 2: Péptidos neuroactivos organizados según aumenta el número de carbonos. Tomado de: Shepher (1988), (Modificado por Iversen, (1979).

2.1 Filogenia

Exceptuando las esponjas, en toda la escala animal desde nidarios (medusas, corales, anémonas de mar, entre otros) hasta el hombre se han descrito neuropéptidos (metionina-encefalina, sustancia P, FMRFamina, hormona adrenocorticotropa, beta-endorfina, vasopresina, polipéptido intestinal vasoactivo, entre otros). Esto indica que la secuencia de aminoácidos de determinados neuropéptidos se ha conservado a lo largo de la escala animal. Sin embargo, en general, se puede afirmar que hay pocos neuropéptidos relacionados (con secuencias de aminoácidos parecidas) entre invertebrados y vertebrados. Es decir, hay neuropéptidos típicos de vertebrados y otros típicos de invertebrados (Murphy y Turner, 1990). Hay que indicar que algunos de los péptidos que se han descrito en el sistema nervioso de vertebrados han sido también localizados en protozoos (hormona adrenocorticotropa, beta-endorfina, colecistoquinina y somatostatina), bacteria (ACTH, beta-endorfina...) y plantas (TRH, beta-endorfina) (Coveñas et al 2007a, b).

A manera de ejemplo podemos destacar el neuropéptido Y del hombre, cobaya, conejo, rata y de reptiles; en todos los casos presenta la misma secuencia de aminoácidos. Sin embargo, la secuencia del neuropéptido Y de aves y de anfibios difiere con respecto a los anteriores en un solo aminoácido (Coveñas et al 2007a, b). Se puede afirmar, según estos resultados, que el neuropéptido Y se mantiene muy conservado a lo largo de la escala animal.

En el caso de la sustancia P, la secuencia de aminoácidos es idéntica en los mamíferos indicados anteriormente, sin embargo la sustancia P en otros vertebrados no mamíferos presentan un bajo porcentaje de homología con respecto a la secuencia de aminoácidos que presentan los mamíferos. Es decir, en la escala animal, la conservación de la secuencia de aminoácidos de la sustancia P es menor que la observada con el neuropeptido Y (Coveñas et al 2007a, b).

2.2 Ontogenia

Se ha demostrado que durante las fases tempranas del desarrollo aumentan las concentraciones de diversos neuropeptidos, en comparación con los niveles que presentan en fases más tardías del desarrollo. Se ha demostrado también que la administración de un neuropeptido – ej., polipeptido intestinal vasoactivo – durante un período concreto del desarrollo embrionario, facilita el buen desarrollo del embrión. Sin embargo, si durante ese mismo periodo se administran antagonistas del polipeptido intestinal vasoactivo, se producen daños graves en dicho desarrollo (ver Coveñas et al 2007a, b).

2.3 Familia de neuropeptidos

Los neuropeptidos se clasifican de acuerdo a la homología que presenta sus secuencias de aminoácidos. Teniendo en cuenta esas homologías, los neuropeptidos (cuyas secuencias de aminoácidos son muy parecidas) se pueden agrupar en las siguientes familias: bombesina y péptido liberador de gastrina, colecistoquinina, péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), neuropeptido Y, neurotensina,

oxitocina y vasopresina, taquiquininas (ej., sustancia P, neuroquinina A y B), polipéptido intestinal vasoactivo (VIP), péptidos opiáceos (ej., metionina-enkefalina, beta-endorfina, alfa-neo-endorfina) (ver Coveñas et al 2007a,b).

Existen otros neuropéptidos no incluidos en las familias anteriores, como por ejemplo: hormona adrenocorticotropa, hormona estimulante de los melanocitos (MSH), galanina, hormona liberadora de hormona luteinizante (LH-RH), factor liberador de corticotropina (CRF), hormona liberadora de tirotropina (Coveñas et al 2007a,b).

2.4 Biosíntesis y procesamiento de los neuropéptidos

Los neuropéptidos se sintetizan de acuerdo al siguiente proceso: 1) **Transcripción:** El ARN-mensajero del pre-pro-péptido se origina a partir del ADN; 2) **Traducción:** El ARN-mensajero es leído por los ribosomas y se sintetiza el pre-pro-péptido; 3) **Formación del pro-péptido o precursor:** el pre-pro-péptido localizado en el interior de las cisternas del retículo endoplasmático rugoso, mediante la acción de una endopeptidasa que se localiza en la membrana del retículo, es transformado en pro-péptido o precursor; 4) **Procesado post-transduccional:** ocurre en el retículo endoplasmático rugoso, complejo de Golgi y/o en las vesículas que se originan a partir de este. Consiste en escindir el precursor mediante la acción de peptidasas y en modificar químicamente (glicosilación, fosforilación y/o sulfatación) al precursor, originándose de esta forma los neuropéptidos; 5) **Liberación de los neuropéptidos:** son liberados al espacio extracelular mediante exocitosis (proceso mediado por calcio) (ver Coveñas et al 2007a, b).

El proceso señalado anteriormente indica que:

- a. Varios neuropeptidos pueden originarse a partir del mismo precursor o pro-peptido.
- b. Si hay una mutación y como resultado se cambia un aminoácido por otro en la secuencia de aminoácidos de un precursor, se podrían originar neuropeptidos atípicos, ya que las enzimas proteolíticas no romperían al precursor por el lugar en donde el aminoácido ha sido cambiado.
- c. Los pre-pro-peptidos o precursores pueden ser procesados de diferentes formas en las distintas zonas del sistema nervioso (dependiendo del sitio de acción sobre el cual las enzimas proteolíticas actúen) (ver Coveñas et al 2007a, b)

En general, se puede decir que la distribución en el sistema nervioso central de los neuropeptidos que proceden del mismo precursor es muy parecida. Sin embargo, hay neuropeptidos que proceden del mismo precursor que tienen distinta distribución. Esta podría estar determinada por el transporte interneuronal de los neuropeptidos, ya que se ha descrito que hay neuropeptidos que son transportados exclusivamente hacia el axón y las dendritas, y otros neuropeptidos (que pertenecen al mismo precursor) que permanecen exclusivamente en el soma neuronal (ver Coveñas et al 2007a, b).

Finalmente, las modificaciones químicas (glicosilación, sulfatación, fosforilación, ciclación, acetilación y amidación) que sufren los neuropeptidos sirven entre otras cosas para: potenciar/inhibir su actividad funcional y/o resistir más tiempo la acción de las peptidasas que degradan a los neuropeptidos (ver Coveñas et al 2007a, b).

2.5 Receptores de neuropeptidos

Los receptores de neuropeptidos están asociados a una proteína G (ver Coveñas, 2007 a, b). La proteína G, a su vez, puede estar acoplada a:

- a. **Adenilato-Ciclase.** La proteína G estimula a la enzima adenilato-ciclase, la cual estimula la síntesis del segundo mensajero (AMPc). En este caso la proteína G se denomina G_s .
- b. **Canal.** La proteína G regula el flujo de iones a través del canal. Abre canales de potasio y cierra canales de calcio. Además, la proteína G inhibe a la adenilato ciclase. En este caso la proteína G se denomina $G_{i/o}$.
- c. **Fosfolipasa C.** La proteína G activa a la fosfolipasa C, que genera el diacilglicerol e inositol trifosfato (IP_3). El IP_3 favorece la liberación de calcio (segundo mensajero) almacenado intracelularmente y por lo tanto aumenta su concentración a nivel intracelular. En este caso la proteína G se denomina $G_{q/11}$ (ver Coveñas et al 2007a, b).

2.6Peptidasas

Una vez separados los neuropéptidos del receptor al que estaban unidos, son degradados por la acción de las peptidasas (ver Coveñas et al 2007a, b). Estas están localizadas en las membranas plasmáticas de las neuronas o de la glía (su zona activa está orientada hacia el espacio extracelular), así como en el plasma sanguíneo (ver Coveñas et al 2007a, b). Las peptidasas se pueden clasificar en (ver Coveñas et al 2007a, b):

- a. **Endopeptidasas:** rompen las uniones de aminoácidos no terminales. Pertenecen a este grupo entre otras, la endopeptidasa 24.11 (encefalinas) y la endopeptidasa 24.15.
- b. **Exopeptidasa:** rompen las uniones de aminoácidos terminales. Son exopeptidasas por ejemplo, la EC 3.4.15.1, la enzima convertidora de

angiotensina (ACE), la aminopeptidasa N, la aminopeptidasa P, la aminopeptidasa B y la carboxipeptidasa.

2.7 Distribución de los neuropeptidos en el sistema nervioso central de mamíferos

Se han descrito tres precursores (pro-opiomelanocortina, pro-enkefalina, pro-dinorfina) a partir de los cuales se originan los péptidos opiáceos (**ver esquema 1**): 1) la pro-opiomelanocortina origina α - y γ - endorfina, β -endorfina (1-31), β -endorfina (1-27), metionina-enkefalina; 2) la pro-enkefalina origina metionina-enkefalina, metionina-enkefalina-Arg⁶-Phe⁷, metionina-enkefalina-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸, leucina-enkefalina; 3) la pro-dinorfina origina los péptidos dinorfina A y B (Loh y Gainer, 1983). Se sabe también que el péptido no opiáceo hormona adrenocorticotropa (**esquema 1**) se origina también a partir de la pro-opiomelanocortina (Khachaturian et al., 1985b).

Además, se ha establecido que la β -endorfina y la hormona adrenocorticotropa se originan exclusivamente de la pro-opiomelanocortina y son por lo tanto buenos marcadores para el sistema pro-opiomelanocortinérgico (Coveñas et al., 1997, 1999). La metionina-enkefalina-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸ es producida exclusivamente a partir de la pro-enkefalina y es por lo tanto un buen marcador para el sistema pro-enkefalinérgico, mientras que la α -neo-endorfina se origina exclusivamente a partir de la pro-dinorfina y es por esto que es un buen marcador para el sistema pro-dinorfinérgico (Loh y Gainer, 1983; Khachaturian et al., 1985 a, b).

Esquema 1. Biosíntesis de los péptidos opiáceos. Estos se originan de tres genes. Gen 1 (arriba) tiene un origen del precursor pro-opiomelanocortina (POMC). El proceso post-trasduccional produce los péptidos que se muestran: α -, β - y γ - hormona estimulante de los melanocitos (MSH); β -endorfina, hormona adrenocorticotropa y el péptido del lóbulo intermedio asociado a la corticotrópina (CLIP). Las encefalinas (abajo), se originan de otros dos genes que codifican para encefalinas A y B; M: metionina-encefalina (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met); L: leucina-encefalina (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu); MAGL: (M-Arg-Gly-Leu); MAP: (M-Arg-Phe); α -neo-endorfina (α -NE); dinorfina-A (DN-A); dinorfina-B (DN-B); dinorfina 32 (D-32). I.L: Lóbulo intermedio de la pituitaria; A.L: Lóbulo anterior de la pituitaria. Tomado de Shepherd (1988).

La distribución de β -endorfina, hormona adrenocorticotropa y metionina-encefalina-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸ ha sido estudiada en el tronco del encéfalo de especies como la rata, el gato, el mono y el hombre (Pittius et al., 1984; Palkovits, 1987, 1988; Zaphiropoulos et al., 1991; Coveñas et al., 1997, 1999; Belda et al., 2003; Coveñas et al., 2003b, 2004, 2008).

En el tronco del encéfalo del mono ardilla (*Saimiri sciureus*) se han descrito la presencia de sustancia P y de encefalinas (Inagaki y Parent, 1985; Edwards et al., 1987; Carpenter et al.; 1990; Charara y Parent, 1998) y en el encéfalo de macacos se ha observado la presencia de sustancia P, encefalinas y dinorfinas (Haber y Elde, 1982; Palkovits, 1988; Maley et al., 1987; Arvidsson et al., 1992). Además, en la parte caudal del tronco del encéfalo del mono *Macaca fuscata* se ha descrito la distribución de β -endorfina, metionina-encefalina-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸ y de leumorfina (Khachaturian et al., 1984). También se ha descrito la presencia de neuroquinina A, en el tronco del encéfalo de humano (Coveñas et al., 2003a).

Han sido descritos tres neuropeptidos derivados de la pro-somatostatina en el sistema nervioso central de mamíferos: la somatostatina-28, la somatostatina-14 y la somatostatina-28 (1-12) (de León et al., 1992). Por otro lado, mediante radioinmunoensayo se ha descrito la distribución de neurotensina en el encéfalo del mono (*Macaca fuscata*) (Kataoka et al., 1979).

3. Neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre y del mono (*Saimiri sciureus*)

A continuación recopilamos los datos que se disponen de los ocho neuropéptidos que hemos estudiado en el hombre (α -neo-endorfina, neuroquinina B (NKB)) y en el mono *Saimiri sciureus* (leucina-enkefalina, ACTH, metionina-enkefalina, sustancia P, somatostatina-28 y CGRP. También hemos abordado de forma escueta y a grandes rasgos, las funciones atribuidas a los ocho mencionados neuropéptidos.

3.1 α -Neo-endorfina

A partir de la pro-dinorfina se originan una serie de péptidos, entre los cuales se encuentra la α -neo-endorfina, la β -neo-endorfina, la dinorfina A y la dinorfina B (Hughes, 1984). El neuropéptido que hemos estudiado (α -neo-endorfina) es un marcador específico del precursor pro-dinorfina, ya que no se origina de los otros dos precursores (pro-opiomelanocortina, pro-enkefalina) de las sustancias opiáceas. La α -neo-endorfina fue obtenida por primera vez a partir del hipotálamo y, al igual que los otros neuropéptidos que hemos estudiado, ha sido secuenciada por completo. Se sabe también que la secuencia de éste péptido se ha conservado en todas aquellas especies en las que se ha estudiado (Murphy y Turner, 1990).

Hasta el momento se han realizado un gran número de estudios (mediante radioinmunoensayo e inmunocitoquímica) para determinar la distribución de la pro-dinorfina, así como de sus derivados en el sistema nervioso central de mamíferos (Khachaturian et al., 1982; Maysinger et al., 1982; Vincent et al., 1982; Weber et al.,

1982; Cone et al., 1983; Palkovits et al., 1983; Weber y Barchas, 1983; Fallon y Leslie, 1985, 1986). En lo que concierne a la α -neo-endorfina, se han realizado estudios en el sistema nervioso central de la rata (Maysinger et al., 1982; Weber et al., 1982; Cone et al., 1983; Palkovits et al., 1983), del perro (Pesini et al., 2001), del mono (*Macaca fascicularis*) (Coveñas et al., 2008) y del hombre, en donde mediante la utilización de un conjunto de técnicas (radioinmunoensayo, filtración de gel y HPLC), demostraron la presencia de alfa-neo-endorfina en la corteza cerebral, hipocampo, tálamo e hipotálamo (Maysinger et al., 1982) mientras que en el gato, se ha estudiado la distribución de fibras y somas inmunorreactivos a nivel del tronco encefálico y de la amígdala (Marcos et al., 1993b, 1998; Coveñas et al; 2000a,b). En éste último estudio se ha descrito la presencia de alfa α -neo-endorfina, en el núcleo espinal del trigémino del gato, lo que indica que este neuropeptido está involucrado en la transmisión y/o en la modulación nociceptiva (Coveñas et al; 2000a). Sin embargo, no se han realizado estudios sobre la distribución de fibras y somas inmunomarcados con α -neo-endorfina en el tronco del encéfalo del hombre.

3.2 Neuroquinina B

Es un decapeptido que se origina a partir de la pro-taquiquinina B y que presenta la siguiente secuencia de aminoácidos: Asp-Met-His-Asp-Phe-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH₂ (Kangawa et al., 1983; Hoyle, 1996).

Se ha descrito una gran densidad de neuroquinina B en las láminas I y II de la médula espinal de la rata (Too y Maggio, 1991), observándose una concentración alta de este neuropeptido en el asta dorsal en comparación con el asta ventral.

La distribución del receptor NK3 ha sido estudiada en el sistema nervioso central del hombre (Mileusnic et al., 1999), Además, existen estudios sobre las distribuciones de fibras y somas marcados con neuroquinina A en el tronco del encéfalo del humano (Coveñas et al., 2003a). Así no se ha realizado hasta el momento un estudio detallado sobre la distribución de somas y fibras inmunomarcadas con neuroquinina B (NKB), en el tronco del encéfalo del hombre.

3.3 Leucina-Enkefalina-(Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu)

El péptido leucina-enkefalina es un pentapéptido que se origina a partir del precursor opiáceo, pro-enkefalina (Loh y Gainer, 1983, Shepherd, 1988). Este péptido es sintetizado en el sistema nervioso central y periférico (Bhargava et al, 1988; Kowalski, et al., 2002). Se ha demostrado que la leucina-enkefalina incrementa la actividad de las células NK en humanos y ratones, así como también incrementa la actividad de los linfocitos (Fait et al., 1984; Haegi et al., 1990; Zhong et al., 1995; Kowalski, 1997, 2000, 2002).

Algunos estudios demuestran que la leucina-enkefalina, al igual que la metionina-enkefalina está localizada en las vías que regulan el comportamiento sexual (apareamiento) y la agresividad (Holt y Newman, 2004). En el sistema nervioso central de humanos se ha encontrado una disminución en los niveles de de leucina-enkefalina en la sustancia negra durante el envejecimiento, así como en pacientes con demencia (Rinne et al., 1993a, b). También, se han realizado estudios sobre la presencia de estructuras inmunorreactivas marcadas con enkefalinas en el sistema nervioso central del mono ardilla (*Saimiri sciureus*) usando técnicas de inmunofluorescencia (Inagaki y

Parent, 1985). En dicho estudio se observó la presencia de somas y fibras inmunomarcadas en el telencéfalo, hipocampo, complejo amigdalino, áreas basales del encéfalo anterior y en el tálamo. Además, se ha observado la presencia de leucina-encefalina en el sistema nervioso central del mono cangrejo (*Macaca fascicularis*) (Haber y Elde, 1982; Di Fliglia y Aronin, 1984). Así, no se han realizado trabajos sobre la distribución de somas y fibras con leucina-encefalina en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*.

3.4 Hormona adrenocorticotropa (18-39) (ACTH)

Esta hormona es un péptido no opiáceo derivado del procesamiento de la pro-opiomelanocortina. Está implicada en mecanismos como el aprendizaje, memoria, analgesia, termorregulación, estrés, locomoción y envejecimiento. También, interviene en el comportamiento sexual y en los mecanismos de defensa; regula la actividad de diversos neurotransmisores centrales, la síntesis de ARN y la actividad de la adenilato ciclasa (Liotta y Krieger, 1983; Khachaturian et al., 1985b). Tiene también un papel importante durante el periodo de formación del encéfalo, ya que tras la administración de ACTH se produce un aumento en la actividad de las ATPasas (Na^+K^+) en un 15-30% con respecto a los controles (Huttenlocher y Amemiya, 1978).

Se han realizado estudios inmunocitoquímicos para determinar la distribución de ACTH (1-39) en el tronco del encéfalo de la rata (Joseph, 1980; Joseph et al., 1983), también se han llevado a cabo estudios en la corteza encefálica y el tronco del encéfalo del mono *Macaca fascicularis*, acerca de la presencia de hormona adrenocorticotropa

(Abrams et al., 1980). Además se ha observado la presencia de estructuras inmunomarcadas con ACTH (1-39) en la pituitaria de rata (Romagnano y Joseph, 1983), Hormona adrenocorticotropa en el sistema nervioso central de la rata (Liotta y Krieger, 1983; Pilcher y Joseph, 1984; Palkovits et al., 1985; Joseph y Michael, 1988; Palkovits, 1988; Léger et al., 1990), y en el diencéfalo del gato (Kitahama et al., 1984, 1986; Rao et al., 1986). Se han observado estructuras marcadas con ACTH (18-39) en el hipotálamo, zonas límbicas, tronco del encéfalo y medula espinal del hombre (Zaphiropoulos et al., 1991).

La distribución de la hormona adrenocorticotropa (18-39) ha sido previamente estudiado mediante las técnicas de inmunocitoquímica en el tronco del encéfalo del perro (Coveñas et al., 2004) y del mono *Macaca fascicularis* (Khachaturian et al., 1984; Coveñas et al., 2008), así como en el diencéfalo de gato (Coveñas et al., 1996a), pero hasta el momento no hemos encontrado datos específicos acerca de la distribución de la hormona adrenocorticotropa (18-39) en el tronco del encéfalo del mono (*Saimiri sciureus*). Así es la primera vez que se realiza un estudio detallado de este neuropéptido en el tronco del encéfalo del mono ardilla (*Saimiri sciureus*).

3.5 Metionina-Encefalina-(Try-Gly-Gly-Phe-Met)

Este pentapéptido se origina a partir del precursor pro-encefalina y presenta la siguiente secuencia de aminoácidos: Tyr-Gly-Gly-Phe-Met (Hoyle, 1996). La presencia de metionina-encefalina-(Tyr-Gly-Gly-Phe-Met), es un buen marcador del sistema pro-encefalinérgico (Abe et al., 1987; Murakami et al., 1987). Este péptido actúa como un

neurotransmisor y/o un neuromodulador y está implicado en la analgesia y en mecanismos cardiovasculares y motores (Akil et al., 1984; Basbaum y Fields, 1984; Pasternak, 1987; Douglas y Kitchen, 1992).

Mediante la aplicación de técnicas inmunocitoquímicas y de radioinmunoensayo, se ha estudiado la distribución de metionina-enkefalina-(Tyr-Gly-Gly-Phe-Met) en el sistema nervioso central (globo pálido, núcleo caudado, putamen, corteza cerebral, colículo superior, sustancia negra, hipotálamo y sustancia gris periacueductal) de la rata, gato, mono y hombre (Pittius et al., 1984; Zamir et al., 1983; Fallon y Leslie, 1986; Murakami et al., 1987; Murakami et al., 1989; Aguilar et al., 2004), en el tronco del encéfalo del mono *Macaca fuscata*, gato, hombre y del mono *Macaca fascicularis* (Ibuki, et al., 1989; Belda et al., 2003; Coveñas et al., 2004, 2008). Según lo indicado, la distribución de somas y fibras inmunomarcados con metionina-enkefalina en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* no se ha realizado previamente.

3.6 Sustancia P

Es un decapeptido que se origina de la pro-taquiquinina A y presenta la siguiente secuencia de aminoácidos: Arg-Pro-Lys- Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂ (Hoyle, 1996; Stahl, 1999). Este péptido participa en la transmisión del dolor, así como también en los procesos inflamatorios (Moussaoui et al., 1992). Asimismo, se ha demostrado que la sustancia P participa en eventos de estrés agudo (Gerancioti et al, 2006). En rata, aplicando técnicas inmunocitoquímicas, se ha descrito la presencia de neuroquinina A (NKA) y sustancia P en el núcleo caudal del trigémino, después de

estimular eléctricamente y unilateralmente el ganglio del trigémino (Samsam et al., 2000, 2001). Estas observaciones indican que ambos neuropéptidos ejercen un efecto excitador sobre las neuronas responsables de la transmisión dolorosa localizadas en dicho núcleo. Además se han realizado estudios que demuestran la presencia de fibras y somas marcados con sustancia P en el mono *Saimiri sciureus* Inagaki y Parent, 1984; Charara y Parent., 1998), gato y rata (Inagaki y Parent, 1984), es de destacar que dichos estudios se realizaron en áreas específicas del sistema nervioso central como son la **sustancia negra** y el núcleo dorsal del rafe; y en el tronco del encéfalo de humano (Nomura et al., 1982, 1987; del Fiocco et al., 1983, 1984; Bouras et al., 1986; Rikard-Bell et al., 1990; Baker et al., 1991; Chigr et al., 1991; Halliday et al., 1990; Wang et al., 1992a, b, 1993; Gai et al., 1993; Jordan et al., 1995; Charara y Parent., 1998). Así, no se ha estudiado en detalle la presencia de sustancia P en el tronco del encéfalo del mono ardilla *Saimiri sciureus*.

3.7 Somatostatina-28 (1-12)

El término de somatostatina involucra a una serie de neuropéptidos (somatostatina-14, somatostatina-28 (1-12) y somatostatina-28), que proceden del procesamiento de una cadena de aminoácidos denominada pro-somatostatina y que está codificada por un solo gen en mamíferos (Goodman et al., 1983).

Se han realizado estudios para determinar la distribución de somatostatina-28 utilizando técnicas de radioinmunoensayo e inmunocitoquímicas en el sistema nervioso central de rata: (Brownstein, et al., 1975; Elde y Parsons, 1975; Alpert et al., 1976; Dierickx y Vandesande, 1979; Bennett-Clarke et al., 1980; Barden et al., 1981; Finley

et al., 1981; Vincent et al., 1985; Wynne y Robertson, 1997), cobaya (Taber-Pierce et al., 1985), ratón (Shimada e Ishikawa, 1989), así como somatostatina-28 (1-12) en perro (Pego-Reigosa et al. 2001). También, se han realizado estudios para determinar la presencia de somatostatina-28 en la médula espinal del mono *Macaca mulatta* (Burnweit y Forssman, 1979), en el núcleo reticular talámico del mono *Macaco Rhesus* (Graybiel y Elde, 1983; Lewis et al., 1986) y se ha encontrado somatostatina-28 y somatostatina-28(1-12) en la corteza y el tronco del encéfalo del mono *Macaca fascicularis* (Beal et al., 1986, 1987; Lewis et al., 1986; Amaral et al., 1989; Coveñas et al., 2008). Se han observado estructuras inmunoreactivas con somatostatina-28 y somatostatina-28 (1-14) en la corteza, encefalo anterior y tronco del encéfalo del hombre (Bugnon et al., 1977; Dèsy y Pelletier, 1977; Eckernäs et al., 1978; Cooper et al., 1981; Davies et al., 1981; Bennett-Clarke y Joseph, 1986; Reubi et al., 1985, 1986, 1987; Bouras et al., 1987; Lesur et al., 1989; Chigr et al., 1989;).

La distribución de la somatostatina en el SNC de mamíferos es muy amplia. Este hecho indica que la somatostatina interviene en numerosas acciones fisiológicas, por ejemplo, que actúa como neuromodulador, participando en la liberación de neurotransmisores clásicos como la acetilcolina y la serotonina, así como en la inhibición de la liberación de noradrenalina; además ejerce un papel importante a nivel de la corteza motora y del sistema límbico (Reichlin, 1983). Así mismo, influye en la motricidad, controla el sueño y el apetito e interviene en la nocicepción, analgesia, aprendizaje y en la memoria (Epelbaum et al., 1994; Schindler et al., 1996).

Se ha comprobado que tras su administración hay una disminución de las horas de sueño, así como hay dificultad en la respiración e hipersensibilidad a los estímulos táctiles (Reichlin, 1983).

Además, la somatostatina inhibe la liberación de la hormona del crecimiento (Reichlin, 1983). También se ha hablado del posible papel que puede jugar este neuropéptido durante la ontogenia (intervendría en la maduración de las vías nerviosas) (Shiosaka et al., 1982; Morley et al., 1985; Chigr et al., 1989; Najimi et al., 1989; Burgunder, 1994), así como del posible papel que ejerce en el mantenimiento del encéfalo en los estadios adultos, ya que se han descrito alteraciones neurológicas y neuropsiquiátricas como consecuencia de una variación en la concentración del neuropéptido o bien de la alteración de sus receptores (Palacios et al., 1990; Bissette y Myers, 1992; Rubinow et al., 1995; Timmers et al., 1996).

Por último, hemos encontrado estudios en los que se habla de las neuronas de la corteza que contienen éste neuropéptido como una posible subclase de neuronas gabaérgicas de mamíferos, y en los que se postula que algunas de estas neuronas pueden tener funciones similares a las que poseen las neuronas reticulares talámicas (Schmechel et al., 1984).

En el SNC del mono (*Macaca fascicularis*) se han realizado estudios sobre la distribución de fibras y somas inmunorreactivos con somatostatina-28 (1-12) en las regiones subcorticales (Beal et al., 1987), corteza cerebral (Beal et al., 1986) y en el tronco del encéfalo (Coveñas et al., 2008). También, se ha estudiado la co-existencia de somatostatina-28 con otras sustancias neuroactivas a nivel de la corteza cerebral (Hendry et al., 1984). Hasta la fecha no hay ningún trabajo detallado sobre la distribución de fibras y cuerpos celulares inmunorreactivos con somatostatina-28 (1-12) referente al tronco del encéfalo del mono ardilla *Saimiri sciureus*.

3.8 Péptido Relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP)

La familia del péptido relacionado con el gen de la calcitonina, involucra a los neuropeptidos: amilina, adrenomedulina, calcitonina y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) (de Souza et al., 2008; Ma et al., 2009), este último se origina a partir del gen de la calcitonina.

El péptido relacionado con el gen de la calcitonina está implicado en la diferenciación y activación de los astrocitos, en la anorexia, inflamación, analgesia, hipertermia, catalepsia y la regeneración de los nervios periféricos. Participa también en la inhibición de los ácidos gástricos, relaja las células musculares del tracto urinario, produce vasodilatación e interviene en mecanismos auditivos (Maison et al., 2003). También, inhibe la formación de úlceras en la mucosa gástrica e intestinal, disminuye la actividad locomotora, controla la expresión de neuropeptidos/neurotransmisores por las neuronas, regula el comportamiento social e inhibe la peristalsis (ver Coveñas et al., 2007a).

Tras aplicar técnicas inmunohistoquímicas y mediante radioinmunoensayo, la presencia de CGRP en el sistema nervioso central de la rata (Skofitsch y Jacobowitz, 1985a,b, 1991; Okimura et al., 1987; Saria et al., 1990; Kresse et al., 1991), del gato (McWilliam et al., 1989; Tashiro et al., 1991; Marcos et al., 1999; Coveñas et al., 2003), de la alpaca (de Souza et al., 2008) y del hombre (Unger y Lange, 1991; de La Calle y Saper, 2000) ha sido descrita. Igualmente se han realizado estudios sobre la presencia de calcitonina en las especies de mono *Macaca mulatta* y *Macaca fascicularis* (Paxinos et

al., 2004). Así, no se ha realizado estudios sobre la presencia fibras y somas inmunoreactivos con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*.

II. MATERIAL Y METODOS

1. Procedimiento Experimental en el Hombre

En la realización de este trabajo hemos usado cinco troncos de encéfalo humanos adultos cedidos por el profesor Pablo Salinas del departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Málaga, sin historia previa de enfermedades neurológicas o psiquiátricas (dos hombres, 81 años (H-1) y 82 años (H-2); tres mujeres, 69 años (M-1), 84 años (M-2) y 87 años (M-3)), quienes murieron de insuficiencia renal, anemia o infarto de miocardio. El diseño experimental, protocolo y procedimiento han sido llevados a cabo bajo la normativa ética y legal de las leyes españolas y europeas, así como también de acuerdo con la declaración de Helsinki. Este trabajo ha sido aprobado por los comités de bioética de la Universidad de Málaga y de Salamanca.

1.1 Perfusion y obtención de secciones

Las autopsias se realizaron dentro de las primeras 24-48 horas postmortem. Los encéfalos fueron extraídos y perfundidos *ex situ* vía carótida y arteria vertebral utilizando una bomba de presión: se administró 1.000 ml de 0.15 M de tampón fosfato salino (PBS; pH 7.2), seguido por 3.000 ml de 4% de paraformaldehído en el mismo tampón. Después de la post-fijación (30 días en la última solución fijadora) a 4 °C, los encéfalos se mantuvieron en PBS a 4° C y fueron crioprotegidos a la misma temperatura, con baños crecientes de sacarosa (10-30%). Los troncos del encéfalo fueron diseccionados y se realizaron cortes frontales de 50 µm del mesencéfalo, de la

protuberancia y del bulbo raquídeo que fueron introducidos en PBS a 4° C y a los que se les aplicó una técnica inmunocitoquímica indirecta.

1.2 Técnica Inmunocitoquímica

A las secciones obtenidas en el criostato se les aplicó la siguiente técnica inmunocitoquímica (ABC):

1. Incubación de las secciones en una solución acuosa con 30% de peróxido de hidrógeno, 20% de amoníaco y 1% de hidróxido de sodio (con la finalidad de inactivar las peroxidasas endógenas) durante veinte minutos. Seguidamente, las secciones se lavaron en PBS durante un periodo de diez minutos, proceso que se efectuó tres veces consecutivas.
2. Incubación de las secciones en tampón PBS con 1% de suero normal de caballo y 0,3% de Triton X-100 (mezcla) durante treinta minutos en agitación y a temperatura ambiente. Este paso se realizó para facilitar la penetración de los anticuerpos.
3. Incubación durante una noche con el primer anticuerpo anti-alfa-neo-endorfina o anti-neuroquinina B diluido 1/15.000-1/30.000 en la mezcla del paso 2. La primera parte de la incubación se efectuó, con agitación, durante dos horas y la segunda parte en reposo, a 4° C durante 12-16 h.
4. Las secciones se lavaron en PBS durante treinta minutos a temperatura ambiente y en agitación.

5. Se incubó, durante una hora (agitación), a temperatura ambiente, en un anticuerpo biotinilado anti-inmunoglobulina G de conejo diluido 1/200 en la mezcla del paso 2.
6. Lavado con PBS durante treinta minutos a temperatura ambiente y en agitación.
7. Las secciones fueron incubadas por una hora en el complejo avidina-biotina-peroxidasa (ABC) (Vectastain), diluid. 1/100 a temperatura ambiente.
8. Lavado, durante diez minutos (reposo) a temperatura ambiente en tampón Tris-ClH (pH 7,6).
9. Revelado de la peroxidasa con 3, 3'-diaminobenzidina disuelta en 50 ml de Tris-ClH y 50 µl de peróxido de hidrógeno durante aproximadamente 5 minutos.
10. Las secciones fueron lavadas con PBS y montadas en portas y cubiertas con una mezcla de PBS/Glicerol (1/1).

1.3 Obtención y Especificidad de los Anticuerpos

Los anticuerpos primarios policlonales utilizados en este estudio fueron obtenidos en conejo (ver Coveñas et al, 2003, 2008).

Dicho anticuerpo está dirigido contra su inmunógeno respectivo, que se preparó acoplando la molécula peptídica sintética completa a una proteína transportadora (seroalbúmina humana) con glutaraldehído. Los conejos se inmunizaron inicialmente con estos inmunógenos emulsionados con adyuvante de Freund completo. Se administraron dosis de recuerdo con adyuvante de Freund incompleto a intervalos de

dos semanas. El plasma se extrajo de los conejos diez días después de tres dosis de recuerdo, y periódicamente después (ver Coveñas et al., 2001).

Se han realizado una serie de controles inmunocitoquímicos para determinar la especificidad de la reacción:

1- Sustitución de la solución que contiene el primer anticuerpo (ej., anti α -neo-endorfina)

por la mezcla (PBS con un 1% de suero normal de caballo y 0,3% de Triton X-100).

2- Tratamiento de las secciones tan sólo con 3,3'-diaminobenzidina.

En ninguno de los dos casos observamos reacción.

3- Preabsorción del primer anticuerpo:

A. α - neo-endorfina

La preabsorción del anticuerpo (anti- α -neo-endorfina) con α -neo-endorfina sintética (100 μ g/ml de anticuerpo diluido) produjo la pérdida del marcaje. Cuando la anti- α -neo-endorfina fue incubada con un exceso (10^{-4} M) de dinorfina A (1-8), dinorfina A (1-17), dinorfina B, β -neo-endorfina, β -endorfina, metionina-enkefalina o leucina-enkefalina, no observamos la pérdida del marcaje.

B. Neuroquinina B

La anti-neuroquinina B fue comprada a la casa comercial Bachem, Suiza. La preabsorción del anticuerpo con neuroquinina B sintética (100 μ g/ml de anticuerpo diluido) produjo la pérdida del marcaje. El anticuerpo utilizado, la anti-neuroquinina B, presentó la siguiente reactividad cruzada: neuroquinina B (100%), fisalaemina (2%),

eledoisina (1%), kasinina (0,6%), sustancia P (0,2%), neuroquinina A (0,1%) y neuropéptido K (0%).

1.4Atlas Estereotáxico

Para estudiar la distribución de los neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre se utilizó el atlas estereotáxico del encéfalo humano realizado por Haines (1987). Además, seguimos la terminología utilizada en dicho atlas.

1.5Densidad de las Fibras y los Somas inmunoreactivos

Las densidades de las fibras inmunorreactivas que hemos observado se han dividido en muy alta, alta, moderada, baja o muy baja (unas pocas fibras). Para la determinación del grado de densidad, las densidades observadas se compararon en todo momento con tres fotos de referencia, tomadas al mismo aumento, a las que previamente fueron adjudicadas las densidades alta, moderada y baja (ver Marcos et al., 1999). El aumento al que se observaron las secciones troncoencefálicas, para determinar el grado de densidad de las fibras inmunorreactivas, fue el mismo al que se realizaron las fotos de referencia.

Las fibras inmunorreactivas fueron clasificadas de la siguiente forma, según su longitud: cortas (40-90 μm), medianas (91-120 μm) y largas (superiores a 120 μm) (ver Belda et al., 2000).

Hemos considerado una densidad alta de somas inmunorreactivos cuando se encontró más de 10 por sección; moderada cuando hemos encontrado entre 5 y 10 somas por sección y baja cuando hemos encontrado menos de 5 somas por sección (ver Belda et al., 2000). Finalmente, hemos considerado que los somas son pequeños cuando

miden menos de 15 μm de diámetro, medianos cuando su diámetro oscilaba entre 15 y 25 μm y grandes si miden más de 25 μm (ver Coveñas et al., 2001).

1.6 Obtención de la Iconografía

Las fotos fueron captadas con una cámara digital Olympus C-51 acoplada a un microscopio Kyowa Unilux. Después, se ajustó el brillo y contraste de las imágenes con el programa Adobe Photoshop CS3; en este mismo programa se realizó la composición de los núcleos y se insertaron los distintos símbolos explicativos.

Los esquemas fueron tomados del atlas de Haines (1987), fueron escaneados con el programa HP Photosmart y redibujados en el programa Canvas 7. Además, se mantuvo la escala original para una óptima visualización de los resultados

2. Procedimiento Experimental en el Mono (*Saimiri sciureus*)

Hemos utilizados ocho monos machos adultos de la especie *Saimiri sciureus*, con un peso entre 800 y 1.000 gramos obtenidos de la colonia de primates que tiene el profesor Julio Villalobos en la Universidad del Valle (Cali-Colombia). Esta colonia contaba con el permiso oficial de la Corporación Regional del Valle del Cauca (CVC) (Colombia). Los animales estuvieron expuestos a la luz (desde la 06:00 h hasta las 20:00 h) y a una temperatura constante de 26° C. Estos animales accedían libremente al agua y a los alimentos. Además permanecieron por lo menos diez días en sus jaulas antes de realizar los experimentos. Estos se desarrollaron según las recomendaciones

éticas y legales de las leyes colombianas sobre experimentación animal (Art., 87 de la Resolución n° 8430 de 1993-Ministerio de Salud-Colombia).

2.1 Perfusión y obtención de secciones

Los animales fueron profundamente anestesiados con ketamina (8 mg/Kg, intramuscular) y tiopental sódico (500 mg/Kg, intraperitoneal); heparinizados y perfundidos vía aorta ascendente con 300 ml de solución salina fría (0,9% NaCl) y con las siguientes soluciones de fijador (ver Mangas et al., 2004, 2007): a) 500 ml de paraformaldehído (PAF) al 1% en tampón fosfato (PB) 0,1 M (pH 7,2) a temperatura ambiente (dos minutos); b) 2.500 ml de PAF al 4% in PB 0,1 M (pH 7,2) a 4° C (diez minutos); y c) 5.000 ml de PAF al 4% (frío) en PB 0,1 M (pH 7,2) (15 minutos). Finalmente, vía aorta se administró 2.000 ml de sacarosa al 5% en PB 0,1 M (pH 7,2) (veinte minutos). Los cerebros fueron diseccionados e inmersos en glicerol (10%) y dimetilsulfóxido (DMSO) (2%) en PB 0,1 M (pH 7,2) a 4° C durante dos días. Posteriormente, los cerebros fueron almacenados a 4° C en glicerol (20%) y DMSO (2%) en PB hasta que fueron cortados en un criostato. Se obtuvieron secciones transversales del tronco del encéfalo (grosor 50 µm) y se guardaron en PB (0,1 M, pH 7,2) con glicerol (20%) y etilenglicol (30%). Posteriormente, a las secciones se les aplicó la técnica inmunocitoquímica indirecta.

2.2 Técnica Inmunocitoquímica

Realizamos los siguientes pasos:

1. Incubación de las secciones en una solución acuosa con 30% de peróxido de hidrógeno, 20% de amoníaco y 1% de hidróxido de sodio (con la finalidad

de inactivar las peroxidasas endógenas) durante veinte minutos. Seguidamente, las secciones se lavaron en PBS durante un periodo de diez minutos, proceso que se efectuó tres veces consecutivas.

2. Incubación de las secciones en tampón PBS con 1% de suero normal de caballo y 0,3% de Triton X-100 (mezcla) durante treinta minutos en agitación y a temperatura ambiente. Este paso se realizó para facilitar la penetración de los anticuerpos.
3. Incubación durante una noche con el primer anticuerpo anti-leucina encefalina, anti-ACTH (18-39), anti-metionina-encefalina, anti-sustancia P, anti-somatostatina-28 (1-12) o anti-CGRP; diluido 1/1000-1/3000 en la mezcla del paso 2. La primera parte de la incubación se efectuó, con agitación, durante dos horas y la segunda parte en reposo, a 4° C durante 12-16 h.
4. Las secciones se lavaron en PBS durante treinta minutos a temperatura ambiente y en agitación.
5. Se incubó, durante una hora (agitación), a temperatura ambiente, en un anticuerpo biotinilado anti-inmunoglobulina G de conejo, diluido 1/200 en la mezcla del paso 2.
6. Lavado con PBS durante treinta minutos a temperatura ambiente y en agitación.
7. Las secciones fueron incubadas por una hora a temperatura ambiente con el complejo avidina-biotina-peroxidasa (ABC) (Vectastain), diluido 1/100.
8. Lavado, durante diez minutos (reposo y temperatura ambiente), en tampón Tris-CIH (pH 7,6)

9. Revelado de la peroxidasa con 3, 3'-diaminobenzidina disuelta en 50 ml de Tris-ClH y 50 µl de peróxido de hidrógeno durante aproximadamente 5 minutos.
10. Las secciones fueron lavadas con PBS y montadas en portas y cubiertas con una mezcla de PBS/Glicerol (1/1)

2.3 Obtención y Especificidad de los Anticuerpos

Los anticuerpos primarios policlonales utilizados en este estudio fueron obtenidos en conejo (De León et al., 1991, 1992; Marcos et al., 1993, 1994a, b; Coveñas et al., 1996a, b, c, 1997, 1999; Belda et al., 2000; Samsam et al., 2000; 2001; Coveñas et al., 2003a; 2004).

Dichos anticuerpos están dirigidos contra sus inmunógenos respectivos, que se prepararon acoplando la molécula peptídica sintética completa o un fragmento (en el caso de la ACTH (18-39) y de la somatostatina-28 (1-12)) a una proteína transportadora (seroalbúmina humana) con glutaraldehído. Los conejos se inmunizaron inicialmente con estos inmunógenos emulsionados con adyuvante de Freund completo. Se administraron dosis de recuerdo con adyuvante de Freund incompleto a intervalos de dos semanas. El plasma se extrajo de los conejos diez días después de tres dosis de recuerdo, y periódicamente después (ver Coveñas et al., 2001).

Para determinar la especificidad de la reacción se realizaron los siguientes controles:

- a. Preabsorción de cada uno de los anticuerpos primarios con un exceso (100 µg por ml de anticuerpo diluido) del antígeno homólogo (ej., anti-sustancia P con sustancia P).

- b. Omisión del primer anticuerpo, sustituyéndolo por mezcla (PBS con 1% de suero normal de caballo y 0.3% de Triton X-100)

En ambos casos no observamos inmunorreactividad.

- c. Preabsorción de los primeros anticuerpos con antígenos no homólogos (ej., anti-sustancia P con metionina-enkefalina):

A. Leucina-enkefalina

Cuando la anti-leucina-enkefalina fue incubada con un exceso (10^{-7} M) de metionina-enkefalina, β -neo-endorfina, β -endorfina, ACTH o dinorfina B no observamos pérdida del marcaje.

B. Hormona adrenocorticotrópica (18-39)

La preabsorción del anticuerpo anti-ACTH (18-39) con ACTH (1-39) o con ACTH (18-39) (100 μ g por ml de anticuerpo diluido) no produjo marcaje. Este se observó cuando se realizó la incubación del anticuerpo con otros péptidos en exceso (10^{-7} M): ACTH (11-19), α -endorfina, β -endorfina, γ -endorfina, β -lipotropina, α -MSH, β -MSH, γ -MSH, metionina-enkefalina, leucina-enkefalina, α -neo-endorfina, hormona liberadora de gonadotropina (GRH) o con dinorfina B

C. Metionina-enkefalina

Observamos marcaje cuando el anticuerpo anti-metionina-enkefalina se incubó con un exceso (10^{-7} M) de β -endorfina (1-31), α -endorfina, γ -endorfina, β -lipotropina, hormona adrenocorticotropa (ACTH), α -MSH, β -MSH, γ -MSH, leucina-enkefalina, dinorfina A, α -neo-endorfina o dinorfina B.

D. Sustancia P

Observamos marcaje cuando el anticuerpo anti-sustancia P se incubó con un exceso (10^{-7} M) de neuroquinina A, neuroquinina B, eledoisina o kasinina.

E. Somatostatina-28 (1-12)

Se apreció marcaje cuando la anti-somatostatina-28 (1-12) se incubó con un exceso (10^{-7} M) de somatostatina-28, somatostatina-14, neuropéptido-Y, neurotensina, angiotensina II, sustancia P, metionina-enkefalina o leucina-enkefalina.

F. Péptido Relacionado con el gen de la Calcitonina (CGRP)

No se observó inmunoreactividad cuando el anti-CGRP se incubó con un exceso (10^{-7} M) de amilina, calcitonina, colesistocinina, sustancia P o neuropéptido Y.

2.4 Atlas Estereotáxico

Para destacar la distribución de péptidos en el tronco del encéfalo del Mono *Saimiri sciureus*, se utilizó el atlas estereotáxico realizado por Emmers y Akert (1963). También, hemos seguido la terminología empleada en dicho atlas.

2.5 Densidad de las Fibras y los Somas inmunoreactivos

Las densidades de las fibras inmunorreactivas que hemos observado se han dividido en muy alta, alta, moderada, baja o muy baja (unas pocas fibras). Para la determinación del grado de densidad, las densidades observadas se compararon en todo momento con tres fotos de referencia, tomadas al mismo aumento, a las que previamente fueron adjudicadas las densidades alta, moderada y baja (ver Marcos et al., 1999). El aumento al que se observaron las secciones troncoencefálicas, para determinar

el grado de densidad de las fibras inmunorreactivas, fue el mismo al que se realizaron las fotos de referencia.

Las fibras inmunorreactivas fueron clasificadas de la siguiente forma, según su longitud: cortas (40-90 μm), medianas (91-120 μm) y largas (superiores a 120 μm) (ver Belda et al., 2000).

Hemos considerado una densidad alta de somas inmunorreactivos cuando se encontró más de 10 por sección; moderada cuando hemos encontrado entre 5 y 10 somas por sección y baja cuando hemos encontrado menos de 5 somas por sección (ver Belda et al., 2000). Finalmente, hemos considerado que los somas son pequeños cuando miden menos de 15 μm de diámetro, medianos cuando su diámetro oscilaba entre 15 y 25 μm y grandes si miden más de 25 μm (ver Coveñas et al., 2001).

2.6 Obtención de la Iconografía

Las fotos fueron captadas con una cámara digital Olympus C-51 acoplada a un microscopio kyowa Unilux. Después, se ajustó el brillo y contraste de las imágenes con el programa Adobe Photoshop CS3; en este mismo programa se realizó la composición de los núcleos y se insertaron los distintos símbolos explicativos.

Los esquemas fueron tomados del atlas de Emmers y Akert (1963), fueron escaneados con el programa HP Photosmart y redibujadas en el programa Canvas 7. Además, se mantuvo la escala original para una óptima visualización de los resultados. Los esquemas mantuvieron siempre la escala original.

III. RESULTADOS

En este apartado describimos la distribución de fibras y somas inmunorreactivos con los distintos neuropeptidos, así como su morfología. Los resultados mencionados de los ocho neuropeptidos estudiados se corresponden con los datos de los troncos del encéfalo del hombre y del mono ardilla (*Saimiri sciureus*).

Realizaremos un análisis individual de los resultados para cada una de las sustancias estudiadas, en función de las distintas regiones. Para ello hemos seguido el orden que se detalla a continuación:

1 Distribución de α -neo-endorfina en el tronco del encéfalo del hombre

1.1 Distribución y Morfología

a. Distribución

En la Figura 1 se aprecia la distribución de las estructuras inmunorreactivas que contienen α -neo-endorfina en el tronco del encéfalo del hombre. Observamos una densidad baja de somas neuronales con α -neo-endorfina en el tracto corticoespinal lateral (Figuras 1A; 9D, E) y en la sustancia gris periacueductal (Figura 1B). Además, una alta densidad de fibras marcadas se observó en la parte lateral del tracto espinal del trigémino (Figura 1C).

Una moderada densidad de fibras marcadas con α -neo-endorfina fue observada en la zona superior y lateral de la porción gelatinosa del núcleo espinal del trigémino (Figuras 1A, B; 9B, C), en la porción magnocelular del núcleo espinal del trigémino (Figuras 1A, B, 9B, C), en la sustancia gris periacueductal (Figuras 1B, C, D; 10D, E), en el núcleo espinal del trigémino, en la zona lateral del núcleo espinal del trigémino, en la zona media del tracto espinal del trigémino, en el núcleo reticular lateral, en el núcleo ambiguo y en el núcleo rubroespinal (Figura 1C). También observamos moderada densidad de fibras marcadas con α -neo-endorfina en el fascículo longitudinal

dorsal (Figura 1E), en el núcleo motor dorsal del vago (Figuras 1E; 11B, C), en la terminación caudal del núcleo hipogloso, en la terminación caudal del núcleo motor del vago (Figura 1B) y en el sistema anterolateral (Figura 1F). Así también hemos observado una moderada densidad de fibras marcadas con α -neo-endorfina en zonas adyacentes a algunos núcleos como por ejemplo alrededor del área espinal del núcleo espinal del trigémino (Figuras 1A, 9F), entre el núcleo cuneatus y el área magnocelular del núcleo espinal del trigémino, junto a la porción gelatinosa del núcleo espinal del trigémino, (Figura 1B), junto al núcleo del tracto solitario y al núcleo solitario, junto al núcleo rubroespinal (Figura 1C), junto al fascículo longitudinal dorsal y entre el núcleo hipogloso y el núcleo espinal del vago (Figura 1E).

Una baja densidad de fibras marcadas con α -neo-endorfina fue observada en la porción magnocelular del núcleo espinal del trigémino (Figura 1A, B), en el área espinal del núcleo accesorio, en las fibras propioespinales (Figura 1A), en el núcleo gracilis (Figuras 1B, C, D, 10F), en el fascículo cuneato, en el núcleo cuneato, en la decusación piramidal y en el núcleo accesorio (Figura 1B). Se observó una baja densidad de fibras inmunomarcadas con α -neo-endorfina en la zona central de la región magnocelular y gelatinosa del núcleo espinal del trigémino (Figuras 1A, B, 10B, C), en el núcleo espinal del trigémino (Figura 1C), en la formación reticular bulbar (Figura 1C, D, E, F), formación reticular de la protuberancia (Figuras 1H, 11F) y formación reticular mesencefálica (Figura 1I, J), sistema anterolateral, en el núcleo accesorio (Figura 1B), en el núcleo reticular lateral, en el núcleo hipogloso, en el núcleo motor dorsal del vago, en el núcleo del tracto solitario (Figura 1C, D, E), en el núcleo vestibular medial (Figuras 1F, G; 11D), en la sustancia gris periacueductal (Figura 1H, I, J), en el núcleo

cuneato lateral (Figura 1E), en el núcleo vestibular espinal (inferior), núcleo solitario (Figura 1E, F), núcleo prepositus y en el núcleo salivar inferior (Figura 1F) . Finalmente, se observó una baja densidad y en algunos casos escasa densidad de fibras marcadas con α -neo-endorfina en núcleo sensorial principal, núcleo motor del trigémino (parte caudal) (Figura 1H) y en las fibras corticospinales (Figura 1I)

Encontramos una baja densidad de fibras en algunos tractos como por ejemplo en el tracto retículoespinal medular (Figura 1A), zona lateral y posterior del tracto espinal del trigémino (Figura 1C), tracto rubroespinal (Figura 1B, H) y en el tracto solitario (Figura 1C, D, E, F). Se observó una baja y en algunos casos escasa densidad de fibras en el tracto tectoespinal (Figura 1H, I) y en el tracto tegmental central (Figura 1H). Finalmente, hemos encontrado una baja densidad de fibras marcadas con α -neo-endorfina en zonas adyacentes a algunas regiones como por ejemplo entre el sistema anterolateral y el área espinal del núcleo accesorio (Figura 1A), alrededor del núcleo gracilis (Figura 1B, C), alrededor del núcleo reticular lateral (Figura 1C) y por debajo del área postrema (Figura 1D), junto al núcleo ambiguo, encima del núcleo vestibular medial y el núcleo vestibular espinal (inferior) (Figura 1F) y cerca del lemnisco medial (Figura 1H).

b. Morfología

Los somas marcados con α -neo-endorfina que hemos encontrado son de tamaño mediano y generalmente presentaban una morfología piramidal (Figura 11D, E), otros presentaron una forma esférica (datos no mostrados) (Tabla I).

Las fibras marcadas con α -neo-endorfina que hemos observado presentaban tamaños diferentes, además estaban poco ramificadas y algunas eran muy finas. La mayoría de las fibras observadas eran largas o medianas y muchas de ellas presentaban varicosidades pequeñas (Figuras 9C; 10C, E, F; 11C, E, F).

En cuanto a su orientación, no hemos detectado un patrón de orientación definido, las fibras que se observaron se disponían paralelamente a la superficie, perpendiculares u oblicuas, sin que ello signifique el predominio de un patrón sobre otro (Tabla II).

c. Estudio semicuantitativo

Hemos estudiado la presencia de α -neo-endorfina en relación con los 46 núcleos que forman el tronco del encéfalo del hombre:

Somas

Observamos un núcleo (2,17% del total de núcleos) con somas inmunorreactivos, así como somas con α -neo-endorfina entre un tracto nervioso (2,17%). En ambas regiones encontramos una densidad baja de somas (Tabla V, gráfico 1).

Fibras

Hemos encontrado fibras con α -neo-endorfina en 36 (78,26%) de los 46 núcleos del tronco del encéfalo. Observamos una densidad alta en un núcleo (núcleo espinal del trigémino), una densidad moderada en 14 núcleos y una densidad baja en 22 núcleos (Tabla V, gráficos 1 y 2).

TABLA I. CUERPOS CELULARES

	Tamaño	Morfología
Nivele anterior y posterior	P: - M: + G:-	Glb/Pir: - Fus/Pyr: +

Fus: fusiformes; **Glb:** globosos o esféricos; **G:** grandes; **M:** medianos; **P:** pequeños; **Pir:** piriformes; **Pyr:** piramidales. El signo + indica la proporción relativa de somas con esas características (+: algunos; +++: la mayoría). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

TABLA II. FIBRAS

	Tamaño	Morfología	Orientación
Nivele anterior y posterior	C: + M/L: +++	F: + NRF: +++ RF: + VP: +++ VG: +	SO: +++

C: cortas; **F:** finas; **L:** largas; **M:** medianas; **NRF:** no ramificadas; **RF:** ramificadas; **SO:** sin patrón de orientación específico; **VG:** con varicosidades grandes; **VP:** con varicosidades pequeñas. El signo + indica la proporción relativa de las fibras con esas características (+++: la mayoría (o la totalidad); +: algunas).

2 Distribución de neuroquinina B (NKB) en el tronco del encéfalo del hombre

2.1 Distribución y Morfología

a. Distribución

Encontramos una baja densidad de somas (entre 1-5 somas) neuronales con neuroquinina B en el colículo superior (Figuras 2H; 12D). Las características del tamaño y la morfología de los somas se resumen en la Tabla III.

Encontramos una baja y en algunos casos una escasa densidad de fibras marcadas con neuroquinina B en la porción gelatinosa y magnocelular del núcleo espinal del trigémino (Figura 2A), en la parte ventral del núcleo cuneato (Figura 2B), en el núcleo espinal del trigémino (Figuras 2C, D), en el núcleo solitario, en el lemnisco medial (Figura 2D, E, F), en la zona ventral de núcleo motor medial (Figura 2A), en el núcleo pontino (Figura 2F), en la sustancia gris periacueductal (Figura 2F, H), en el núcleo motor dorsal del vago (Figura 2C), núcleo vestibular medial (Figura 2C, D) y en el núcleo espinal del trigémino (Figura 2C, D). Observamos una baja densidad fibras marcadas con neuroquinina B en la formación reticular bulbar (Figura 2D), formación reticular de la protuberancia (Figura 2E, F,) y en la formación reticular mesencefálica (Figura 2H), colículo superior y en el braquium del colículo inferior (Figura 2H).

Observamos una baja y/o escasa densidad de fibras en algunos tractos como por ejemplo en el tracto retículoespinal (Figura 2D), tracto segmental central (Figura 2H) y en el tracto trigeminotalámico ventral (Figura 2G). Finalmente, hemos observado la presencia de una baja densidad de fibras marcadas con neuroquinina B en zonas adyacentes a determinadas regiones como por ejemplo cerca de la porción magnocelular del núcleo espinal del trigémino, debajo del núcleo cuneato (Figura 2B), entre el núcleo motor dorsal del vago y el núcleo hipogloso (Figura 2C, D) entre el núcleo vestibular medial y el núcleo motor dorsal del vago (Figura 2C), encima del núcleo ventral medial y junto al sistema anterolateral (Figura 2D).

b. Morfología

Los somas inmunoreactivos con neuroquinina B que hemos encontrado son de tamaño mediano y piriformes (Figura 13D) (Tabla III).

Las fibras marcas que se observaron presentaban tamaños diversos y no presentaban ramificaciones. Mayoritariamente eran largas o medianas y presentaban varicosidades pequeñas (datos no mostrados).

En cuanto a su patrón de orientación, no hemos detectado uno definido. Las fibras que se observaron se disponían de manera perpendicular y oblicua, sin que por ello signifique el predominio de un patrón sobre otro (Tabla IV).

c. Estudio semicuantitativo

Hemos estudiado la presencia de neuroquinina B en relación con los 46 núcleos que forman el tronco del encéfalo del hombre:

Somas

Observamos un núcleo (2,17%) con somas inmunorreactivos (densidad baja) para la neuroquinina B (colículo superior) (Tabla V, gráfico 1).

Fibras

Hemos encontrado 21 núcleos (46,65%) con fibras con neuroquinina B. Se observaron 21 núcleos con una densidad baja de fibras con neuroquinina B (Tabla V, gráficos 1 y 2).

TABLA III. CUERPOS CELULARES

	Tamaño	Morfología
Nivele anterior y posterior	P: - M: + G: -	Glb/Pir: + Fus/Pyr: -

Fus: fusiformes; **Glb:** globosos o esféricos; **G:** grandes; **M:** medianos; **P:** pequeños; **Pir:** piriformes; **Pyr:** piramidales. El signo + indica la proporción relativa de somas con esas características (+: algunos; +++: la mayoría). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

TABLA IV. FIBRAS

	Tamaño	Morfología	Orientación
Nivele anterior y posterior	C: + M/L: +++	F: + NRF: +++ RF: - VP: +++ VG: +	SO: +++

C: cortas; **F:** finas; **L:** largas; **M:** medianas; **NRF:** no ramificadas; **RF:** ramificadas; **SO:** sin patrón de orientación específico; **VG:** con varicosidades grandes; **VP:** con varicosidades pequeñas. El signo + indica la proporción relativa de las fibras con esas características (+++: la mayoría (o la totalidad); +: algunas). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

TABLA V. Número de núcleos del tronco del encéfalo y porcentaje en donde se observó inmunorreactividad en el hombre (número total de núcleos: 46).

Neuropéptido	N° Núcleos/Soma	N° Núcleos /Fibra
α -neo-endorfina	2	36
Neuroquinina B	1	21

Neuropéptido	% Núcleos/Soma	% Núcleos/Fibra
α -neo-endorfina	4,34	78,26
Neuroquinina B	2,17	46,65

3 Distribución de leucina-encefalina- (Try-Gly-Gly-Phe-Leu) en el tronco del encéfalo del mono (*Saimiri sciureus*)

3.1 Distribución y Morfología

a. Distribución

En la Figura 3 se observa la distribución de los somas y/o fibras inmunomarcadas con leucina-encefalina-(Try-Gly-Gly-Phe-Leu) en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*. Hemos observado una baja densidad de somas neuronales (1-5 somas) marcados con leucina-encefalina en el colículo superior (Figuras 3C; 14D).

Observamos una alta densidad de fibras marcadas con leucina-encefalina en la región ventral de la sustancia gris periacueductal (Figuras 3C; 14E, F), en el colículo superior, oliva superior (Figura 3C) y en el núcleo vestibular medial (Figura 3E). Además, observamos una alta densidad de fibras marcadas con leucina-encefalina junto al núcleo interpeduncular (Figuras 3A; 13B, C), alrededor del braquium conjuntivum y junto a la oliva superior (Figura 3C).

Una moderada densidad de fibras marcadas con leucina-encefalina fue observada en la sustancia negra (zona compacta) (Figura 3A), el núcleo interpeduncular (Figuras 3A; 13D), en la región ventral de la sustancia gris periacueductal, en el núcleo anular

(Figuras 3B, C; 14B, C), en la decusación del braquium conjuntivum, el núcleo central superior (Figura 3B), en la región lateral de la oliva superior (Figura 3C), la formación reticular de la protuberancia (Figura 3D), en la formación reticular bulbar (Figura 3E, F, G), núcleo dorsal del vago, núcleo del tracto solitario (Figura 3F) y en el núcleo espinal del trigémino (Figuras 3F, G; 15B, C). Además, hemos encontrado una moderada densidad de fibras marcadas con leucina-encefalina encima del núcleo interpeduncular, junto a la sustancia negra (Figura 3A), junto a la sustancia gris periacueductal (Figura 3B), alrededor del braquium conjuntivum (Figura 3C) y entre el núcleo espinal del trigémino y el núcleo vestibular medial (Figura 3E).

Finalmente, hemos observado una baja densidad de fibras marcadas con leucina-encefalina en la sustancia negra (zona difusa) (Figuras 3A; 13E, F), núcleo interpeduncular (Figura 3A), colículo superior (Figura 3C), núcleo reticular tegmental, zona rostrolateral, rostromedial y medial de la sustancia gris pontina (Figura 3A, B), núcleo troclear (Figura 3B), núcleo tegmental dorsal (Figura 3C), sustancia gris periacueductal (Figura 3B, D), formación reticular mesencefálica (Figura 3B, C), formación reticular de la protuberancia y en la línea media de la protuberancia (Figura 3D, E). Se observó una baja densidad de fibras marcadas con leucina-encefalina en el braquium conjuntivum, núcleo facial, núcleo prepositus (Figura 3D), núcleo vestibular medial (Figura 3E, F), núcleo vestibular superior, núcleo espinal del trigémino (Figura 3E), núcleo reticular lateral (Figura 3F), núcleo gracilis (Figura 3G), núcleo cuneato y núcleo cuneato lateral (Figura 3F, G), núcleo vestibular anterior (Figura 3E), núcleo reticular lateral y en el núcleo del nervio hipogloso (Figura 3F). Además, observamos baja densidad de fibras marcadas con leucina-encefalina en el tracto piramidal (Figura

3B, D, E, F, G). También fue observada una baja densidad de fibras en zonas adyacentes a algunos núcleos como por ejemplo entre el núcleo geniculado y la sustancia gris periacueductal (Figura 3B), alrededor del braquium conjuntivum, por encima de la oliva inferior (accesorio principal) (Figura 3D) y alrededor del núcleo reticular lateral (Figura 3F)

b. Morfología

Hemos encontrado una baja densidad de somas (1-5 somas) inmunorreactivos con leucina-enkefalina. Eran de gran tamaño, globosos o esféricos y débilmente marcados (Figura 14D) (Tabla VI).

Las fibras marcadas con leucina-enkefalina que se observaron presentaban tamaños diversos, algunas estaban ramificadas y en su mayoría eran largas o medianas. También observamos fibras finas con varicosidades pequeñas (en su mayoría), sin embargo se destacan algunas fibras con varicosidades grandes (Figuras 13C-F; 14C, E, F; 15C, D).

En cuanto a su orientación, no hemos detectado un patrón de orientación definido. Las fibras que se observaron se disponían de forma perpendicular y oblicua, sin que ello signifique el predominio de un patrón sobre otro (Tabla VII).

c. Estudio semicuantitativo

Hemos estudiado la presencia de leucina-enkefalina en relación con los 45 núcleos que forman el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*:

Somas

Se observó un núcleo (2,22%) con somas inmunoreactivos (colículo superior) (densidad baja) (Tabla XV, gráficos 3 y 4).

Fibras

Hemos encontrado 34 núcleos (75,55%) inmunorreactivos. De éstos, observamos 4 núcleos con una densidad alta (sustancia gris periacueductal, núcleo central superior, oliva superior y núcleo vestibular medial); 9 núcleos presentaron una moderada densidad y 21 núcleos presentaron una densidad baja de fibras con leucina encefalina (Tabla XV, gráficos 3 y 4).

TABLA VI. CUERPOS CELULARES

	Tamaño	Morfología
Nivele anterior y posterior	P: - M:- G:+	Glb/Pir: + Fus/Pyr: -

Fus: fusiformes; **Glb:** globosos o esféricos; **G:** grandes; **M:** medianos; **P:** pequeños; **Pir:** piriformes; **Pyr:** piramidales. El signo + indica la proporción relativa de somas con esas características (+: algunos; +++: la mayoría). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

TABLA VII. FIBRAS

	Tamaño	Morfología	Orientación
Nivele anterior y posterior	C: + M/L: +++	F: + NRF: +++ RF: - VP: +++ VG: +	SO: +++

C: cortas; **F:** finas; **L:** largas; **M:** medianas; **NRF:** no ramificadas; **RF:** ramificadas; **SO:** sin patrón de orientación específico; **VG:** con varicosidades grandes; **VP:** con varicosidades pequeñas. El signo + indica la proporción relativa de las fibras con esas características (+++: la mayoría (o la totalidad); +: algunas). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

4 Distribución de hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en el tronco del encéfalo del mono (*Saimiri sciureus*)

4.1 Distribución y Morfología

a. Distribución

En la Figura 4 podemos observar la distribución de las estructuras inmunorreactivas que contienen hormona adrenocorticotrópica (18-39) (ACTH) en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*. No encontramos somas inmunoreactivos con hormona adrenocorticotrópica (18-39) en el tronco del encéfalo de esta especie.

Una baja densidad de fibras marcadas con hormona adrenocorticotropa (18-39) fue observada en el núcleo interpeduncular (Figura 4A), colículo superior, núcleo central superior (Figura 4B, C), colículo inferior (Figura 4C), formación reticular mesencefálica (Figuras 4B, C; 16F), formación reticular de la protuberancia (Figuras 4D, E; 18D) y formación reticular bulbar (Figura 4F-H), en la sustancia gris periacueductal (Figuras 4B, D; 16B, C), el braquium conjuntivum (Figura 4C, D), decusación del braquium conjuntivum (Figura 4B), en el núcleo anular (Figuras 4B; 16D, E), en la línea media de la protuberancia (Figura 4D), en el núcleo espinal del trigémino (Figura 4D, G), en el núcleo principal del trigémino (Figura 4D, E), núcleo abducens, núcleo vestibular medial (Figura 4E, F), núcleo vestibular lateral (Figura 4E; 18B, C), núcleo del nervio hipogloso (Figura 4G) y en el núcleo del tracto solitario

(Figura 4F). Además, observamos una baja densidad de fibras marcadas con hormona adrenocorticotropa (18-39) en la parte rostral de la sustancia negra (zona difusa), en el núcleo rojo (Figura 4A), núcleo reticular tegmental pontino (Figura 4A, B), núcleo dorsal del vago (Figura 4G), oliva inferior medial (Figura 4E) y núcleo cuneato (Figura 4H). Finalmente, fue observada una baja densidad de fibras con hormona adrenocorticotropa (18-39) entre el núcleo anular y el lemnisco medial (Figura 4B), alrededor del braquim conjuntivum (Figura 4D), cerca al núcleo facial, encima del núcleo olivar inferior principal (Figura 4D, E), alrededor del núcleo rojo (Figura 4A), junto al núcleo del nervio hipogloso y encima del tracto piramidal (Figura 4G).

b. Morfología

Las fibras marcadas con hormona adrenocorticotropa (18-39) presentaban tamaños diversos, algunas estaban ramificadas y en su mayoría eran largas o medianas. También, observamos fibras finas sobre todo en la sustancia gris periacueductal, con varicosidades pequeñas (en su mayoría), destacándose también algunas fibras con varicosidades grandes (Figuras 16C, E, F; 17C, D).

Al igual que los neuropeptidos anteriores no hemos detectado un patrón de orientación definido; las fibras que se observaron se disponían perpendicular y oblicuamente, sin que ello signifique el predominio de un patrón sobre otro (Tabla VIII).

c. Estudio semicuantitativo

Hemos estudiado la presencia de la hormona adrenocorticotropa (18-39) en relación con los 45 núcleos que forman el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*:

Somas

No se observaron somas inmunorreactivos en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*.

Fibras

Observamos 22 núcleos (48,88%) inmunorreactivos. En todos los casos encontramos una densidad baja de fibras con la hormona adrenocorticotropa (Tabla XV, gráficos 3 y 4).

TABLA VIII. FIBRAS

	Tamaño	Morfología	Orientación
Nivele anterior y posterior	C: + M/L: +++	F: + NRF: +++ RF: + VP: +++ VG: +	SO: +++

C: cortas; **F:** finas; **L:** largas; **M:** medianas; **NRF:** no ramificadas; **RF:** ramificadas; **SO:** sin patrón de orientación específico; **VG:** con varicosidades grandes; **VP:** con varicosidades pequeñas. El signo + indica la proporción relativa de las fibras con esas características (+++: la mayoría (o la totalidad); +: algunas). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

5 Distribución de metionina-encefalina-(Try-Gly-Gly-Phe-Met) en el tronco del encéfalo del mono (*Saimiri sciureus*)

5.1 Distribución y Morfología

a. Distribución

En la Figura 5 podemos observar la distribución de las estructuras inmunorreactivas que contienen metionina-encefalina en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*. Hemos localizado cuerpo celulares inmunomarcados con metionina-encefalina junto al núcleo geniculado medial (Figura 5B) y por encima del lemnisco medial (Figura 5B; 19B).

Observamos una alta densidad de fibras marcadas con metionina-encefalina en el colículo inferior, zonas media y posterior de la sustancia gris periacueductal (Figura 5C), núcleo central superior (Figura 5B), núcleo vestibular medial (Figura 5E; 20B), núcleo del tracto solitario y núcleo dorsal del nervio vago (Figura 5G). También, fue observada una alta densidad de fibras marcadas con metionina-encefalina alrededor del braquium conjutivum (Figura 5C, D) y junto al núcleo interpeduncular (Figura 5A; 18B, C)

Hemos encontrado una moderada densidad de fibras marcadas con metionina-encefalina en la parte ventral de la sustancia negra (zona compacta), la zona lateral del núcleo interpeduncular (Figura 5A), la sustancia gris periacueductal (Figuras 5B, C; 19C), en la línea media mesencefálica, núcleo tegmental dorsal (Figura 5C), núcleo anular, núcleo del nervio troclear (Figura 5B), parte dorsal del núcleo principal del trigémino, núcleo del tracto solitario (Figura 5F) y en el núcleo espinal del trigémino (Figura 5F). Además, ha sido observada una moderada densidad de fibras marcadas con metionina-encefalina entre el lemnisco medial y el núcleo anular, junto a la decusación del braquium conjuntivum y encima del lemnisco medial (Figura 5B), junto a la oliva inferior (Figura 5E) y junto al núcleo del tracto solitario (Figura 5F).

Observamos una baja densidad de fibras marcadas con metionina-encefalina en la parte central del núcleo interpeduncular, la sustancia negra (zona difusa) (Figura 5A), zonas rostrolateral, medial, rostromedial y ventral de la sustancia gris pontina (Figura 5A, B; 19D), colículo superior (Figura 5B, C), formación reticular mesencefálica (Figura 5B, C), formación mesencefálica de la protuberancia (Figura 5D-F), formación reticular bulbar (Figura 5G, H), línea media de la protuberancia (Figura 5D-F), oliva inferior (Figura 5E), sustancia gris periacueductal (Figura 5B, D), braquium conjuntivum (Figura 5D, E), parte media del núcleo principal del trigémino, núcleo espinal del trigémino (Figuras 5D, E, G, H; 20C), núcleo vestibular medial (Figura 5G), núcleo prepositus, núcleo vestibular superior, lateral (Figura 5E) e inferior (Figura 5E, F), núcleo cuneato lateral (Figura 5F, G), núcleo del nervio hipogloso (Figura 5F, H) y el núcleo dorsal del nervio vago (Figura 5H). Hemos encontrado una baja densidad de fibras marcadas con metionina-encefalina en algunos tractos como por ejemplo el tracto

piramidal (Figura 5B, D-G) y el tracto tectoespinal (Figura 5G, H). Finalmente, hemos observado una baja densidad de fibras marcadas con metionina-encefalina en regiones no específicas anatómicamente como por ejemplo debajo del colículo inferior (Figura 5C) y junto a la oliva inferior (accesorio principal) (Figura 5D-F).

b. Morfología

Hemos encontrado una baja densidad de somas (1-5 cuerpos celulares) marcados con metionina-encefalina. Eran de mediano tamaño, esféricos y presentaban un débil marcaje (Figura 19B) (Tabla VIX).

Las fibras marcadas con metionina-encefalina presentaban tamaños diversos. La mayoría de las fibras observadas eran largas o cortas y ramificadas. También, observamos en su gran mayoría fibras finas con varicosidades pequeñas, destacándose también algunas fibras con varicosidades grandes (Figuras 18C, D; 19 C, D; 20B, D) (Tabla X).

No se destaca un patrón de orientación definido, las fibras que observamos se disponían de manera perpendicular y oblicua, sin que ello signifique el predominio de un patrón específico (Tabla X).

c. Estudio semicuantitativo

Hemos estudiado la presencia de metionina-encefalina en relación con los 45 núcleos que forman el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*:

Somas

Se observó un núcleo (2,22%) con somas inmunorreactivos (formación reticular del mesencéfalo) (densidad baja) (Tabla XV, gráficos 3 y 4).

Fibras

Hemos encontrado 27 núcleos (60%) con fibras con metionina-encefalina: 5 de ellos con una densidad alta (sustancia gris periacueductal, núcleo central superior, colículo inferior, núcleo motor dorsal del vago y núcleo vestibular medial); 9 núcleos presentaron una densidad moderada y 16 núcleos presentaron una densidad baja de fibras con metionina-encefalina (Tabla XV, gráficos 3 y 4).

TABLA VIX. CUERPOS CELULARES

	Tamaño	Morfología
Nivele anterior y posterior	P: - M: + G: -	Glb/Pir: + Fus/Pyr: -

Fus: fusiformes; **Glb:** globosos o esféricos; **G:** grandes; **M:** medianos; **P:** pequeños; **Pir:** piriformes; **Pyr:** piramidales. El signo + indica la proporción relativa de somas con esas características (+: algunos; +++: la mayoría). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

TABLA VX. FIBRAS

	Tamaño	Morfología	Orientación
Nivele anterior y posterior	C: + M/L: +++	F: + NRF: + RF: +++ VP: +++ VG: +	SO: +++

C: cortas; **F:** finas; **L:** largas; **M:** medianas; **NRF:** no ramificadas; **RF:** ramificadas; **SO:** sin patrón de orientación específico; **VG:** con varicosidades grandes; **VP:** con varicosidades pequeñas. El signo + indica la proporción relativa de las fibras con esas características (+++: la mayoría (o la totalidad); + : algunas). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

6. Distribución de sustancia P en el tronco del encéfalo del mono (*Saimiri sciureus*)

a. Distribución y Morfología

a. Distribución

En la Figura 6 podemos observar la distribución de las estructuras inmunorreactivas que contienen sustancia P en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*. No observamos somas neuronales marcados con este neuropeptido.

Observamos una alta densidad de fibras marcadas con sustancia P en el núcleo espinal del trigémino (Figura 6F, H).

Observamos una moderada densidad de fibras marcadas con sustancia P en el núcleo vestibular medial (Figura 6E), núcleo dorsal del vago (Figura 6F, G), en la formación reticular bulbar y en la parte lateral del núcleo espinal del trigémino (Figura 6F). Además, se observó una moderada densidad de fibras marcadas con este neuropeptido junto a la oliva superior (Figura 6B).

Encontramos una baja densidad de fibras marcadas con sustancia P en la sustancia gris periacueductal (Figuras 6A-C; 21B, C), en el colículo superior, en la formación reticular mesencefálica (Figura 6A, B), en el braquium conjuntivum (Figura 6B), oliva superior (Figura 6B), formación reticular de la protuberancia (Figura 6C-E), formación reticular bulbar (Figura 6 G), núcleo espinal del trigémino (Figura 6C, D, E), núcleo del

tracto solitario (Figura 6F), núcleo cuneato, núcleo hipogloso (Figuras 6G; 22B, C), línea media de la protuberancia en su zona ventral (Figura 6D), núcleo del nervio troclear, núcleo anular (Figura 6A), núcleo tegmental dorsal, núcleo dorsal del rafe (Figura 6B). También, observamos una baja densidad de fibras marcadas con sustancia P junto a la oliva superior (Figura 6B), y alrededor del braquium conjuntivum (Figuras 6B, C; 21C). Finalmente, fue observada una baja y en ocasiones escasa densidad de fibras marcadas con sustancia P en el braquium pontino (Figura 6B), zona rostrolateral y medial de la sustancia gris pontina, núcleo reticulotegmental pontino (Figura 6A), línea media de la protuberancia en su parte ventral (Figura 6D), en el núcleo facial (Figura 6C), decusación del braquium conjuntivum (Figura 6A), oliva inferior (accesorio medial) (Figura 6D), parte lateral y ventral del núcleo vestibular medial (Figura 6E) y en el núcleo reticular lateral (Figura 6F).

b. Morfología

La mayoría de las fibras marcadas con sustancia P no presentaban ramificaciones y su longitud variaba entre medianas y cortas. La gran mayoría de las fibras observadas eran finas y con varicosidades pequeñas (Figuras 21C, D; 22C, D) (Tabla XI).

No se destaca un patrón de orientación definido, las fibras observadas estaban dispuestas de manera perpendicular y oblicua, sin que ello signifique el predominio de un patrón específico (Tabla XI).

c. Estudio semicuantitativo

Hemos estudiado la presencia de sustancia P en relación con los 45 núcleos que forman el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*:

Somas

No observamos núcleos con somas conteniendo sustancia P en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*.

Fibras

Encontramos 18 núcleos (40%) inmunorreactivos: uno de ellos con una densidad alta de fibras (núcleo espinal del trigémino); 2 núcleos presentaron una densidad moderada y 15 núcleos presentaron una densidad baja (Tabla XV, gráficos 3 y 4).

TABLA XI. FIBRAS

	Tamaño	Morfología	Orientación
Nivele anterior y posterior	C: +++ M/L: +	F: +++ NRF: +++ RF: - VP: +++ VG: +	SO: +++

C: cortas; **F:** finas; **L:** largas; **M:** medianas; **NRF:** no ramificadas; **RF:** ramificadas; **SO:** sin patrón de orientación específico; **VG:** con varicosidades grandes; **VP:** con varicosidades pequeñas. El signo + indica la proporción relativa de las fibras con esas características (+++: la mayoría (o la totalidad); + : algunas). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

7. Distribución de somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo del mono (*Saimiri sciureus*)

a. Distribución y Morfología

a. Distribución

En la Figura 7 podemos observar la distribución de las estructuras inmunorreactivas que contienen somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*. Hemos localizado una baja densidad de cuerpo celulares (1-5 somas) marcados con somatostatina-28 (1-12) en la sustancia gris periacueductal y en la línea media de la protuberancia (Figuras 7E; 24B, C).

Una alta densidad de fibras marcadas con somatostatina-28 (1-12) fue observada en el núcleo vestibular medial (Figura 7G). También, se encontró una alta densidad de fibras marcadas con este neuropeptido junto al braquium conjuntivum (Figura 7D).

Hemos encontrado una moderada densidad de fibras marcadas con somatostatina-28 (1-12) en el núcleo interpeduncular (Figura 7A), en la sustancia gris periacueductal (Figuras 7B, C, D, E; 23B, C), colículo inferior (Figura 7D), núcleo central superior (Figuras 7B, C; 24D), núcleo dorsal del rafe, núcleo tegmental dorsal (Figura 7D), línea media de la protuberancia (Figuras 7E, F; 24D), cuerpo trapezoide (Figura 7D), braquium conjuntivum (Figura 7D, E), núcleo del nervio facial (Figura 7E), núcleo

vestibular inferior, formación reticular de la protuberancia (Figura 7F), formación reticular bulbar (Figura 7H, I), núcleo hipogloso (Figura 7G, I) y en el núcleo dorsal del vago (Figura 7I).

Encontramos una moderada densidad de fibras marcadas con somatostatina-28 (1-12) alrededor del braquium conjuntivum (Figura 7D, E), junto al núcleo principal del trigémino, entre el núcleo facial y la oliva superior (Figura 7E), por debajo de núcleo vestibular medial y encima de la oliva inferior (Figura 7F).

Encontramos también una baja densidad de fibras marcadas con somatostatina-28 (1-12) en la sustancia negra (zona difusa y zona compacta) (Figura 7A), en la decusación del braquium conjuntivum (Figura 7A, B), en la porción dorsal de la sustancia gris periacueductal (anterioridad 1.5; 3.0) (Figura 7B, C), en el colículo superior (Figura 7B-D), en la formación reticular mesencefálica (Figura 7B-D), en la formación reticular de la protuberancia (Figura 7E-G), en la formación reticular bulbar (Figuras 7H, I; 25B), núcleo vestibular medial, zona dorsal de la línea media de la protuberancia, núcleo vestibular lateral, núcleo vestibular superior (Figura 7F), núcleo reticulotegmental pontino (Figura 7B, C), zonas lateral, medial y ventral de la sustancia gris pontina (Figura 7B), núcleo espinal del trigémino (Figura 7E-H), oliva superior (Figura 7D), núcleo cuneato (Figura 7I), núcleo del tracto solitario (Figura 7G-I), oliva inferior (Figura 7F) porción dorsal del núcleo interpeduncular (Figura 7A), porción dorsal del núcleo central superior (Figura 7C), núcleo prepositus (Figura 7F) y en el núcleo cuneato lateral (Figura 7I).

Observamos una baja densidad de fibras marcadas con somatostatina-28 (1-12) junto a la sustancia negra (Figura 7A), alrededor de la oliva superior (Figura 7D), junto a la oliva inferior (Figura 7F, G) y junto al canal central (Figuras 7I; 25C, D).

Finalmente, una baja y en ocasiones escasa densidad de fibras marcadas con somatostatina-28 (1-12) fue encontrada en el tracto espinocerebelar (Figura 7H) y en el tracto tectoespinal (Figura 7H, I).

b. Morfología

Hemos observado una baja densidad de somas (1-5 cuerpos celulares) marcados con somatostatina-28 (1-12). Los somas eran pequeños, esféricos y presentaban un débil marcaje (Figura 24B, C) (Tabla XII).

Las fibras marcadas con somatostatina-28 (1-12) eran largas, medianas y cortas y algunas estaban ramificadas. También, observamos en su gran mayoría fibras finas con varicosidades pequeñas (Figuras 23B-D; 24D; 25B-D). (Tabla XIII).

Al igual que los otros neuropeptidos no se destaca un patrón de orientación definido. Las fibras observadas se disponían de forma perpendicular y oblicua (Tabla XII).

c. Estudio semicuantitativo

Hemos estudiado la presencia de somatostatina-28 (1-12) en relación con los 45 núcleos que forman el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*:

Somas

Se observó un núcleo (2,22%) con somas inmunorreactivos (sustancia gris periacueductal) (densidad baja) (Tabla XV, gráficos 3 y 4).

Fibras

Se observaron 30 núcleos (66,66%) inmunorreactivos: 2 núcleos con una densidad alta (núcleo motor dorsal del vago y núcleo vestibular medial); 10 núcleos presentaron una densidad moderada y 18 núcleos presentaron una densidad baja de fibras con somatostatina-28 (1-12) (Tabla XV, gráficos 3 y 4).

TABLA XII. CUERPOS CELULARES

	Tamaño	Morfología
Nivele anterior y posterior	P: +++ M: - G: -	Glb/Pir: +++ Fus/Pyr: -

Fus: fusiformes; **Glb:** globosos o esféricos; **G:** grandes; **M:** medianos; **P:** pequeños; **Pir:** piriformes; **Pyr:** piramidales. El signo + indica las proporciones relativas de somas con esas características (+: algunos; +++: la mayoría). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

TABLA XIII. FIBRAS

	Tamaño	Morfología	Orientación
Nivele anterior y posterior	-C: + -M/L: +++	-F: + -NRF: +++ -RF: + -VP: +++ -VG: -	-SO: +++

C: cortas; **F:** finas; **L:** largas; **M:** medianas; **NRF:** no ramificadas; **RF:** ramificadas; **SO:** sin patrón de orientación específico; **VG:** con varicosidades grandes; **VP:** con varicosidades pequeñas. El signo + indica las proporciones relativas de las fibras con esas características (+++: la mayoría (o la totalidad); +: algunas). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

8. Distribución del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) en el tronco del encéfalo del mono (*Saimiri sciureus*)

a. Distribución y Morfología

a. Distribución

En la Figura 8 se observa la distribución de las estructuras inmunorreactivas que contienen el péptido relacionado con el gen de la calcitonina el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*. No hemos encontrado cuerpo celulares inmunomarcados con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el tronco del encéfalo de esta especie.

Hemos observado una alta densidad de fibras inmunomarcadas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el núcleo vestibular medial (Figuras 8D, E; 27B, C) y en el núcleo espinal del trigémino (Figura 8D-F). Además, se ha observado una alta densidad de fibras marcadas con CGRP alrededor del braquium conjunctivum (Figuras 8B, C; 26C, D),

Observamos una moderada densidad de fibras marcadas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en la porción dorsal de la sustancia gris periacueductal (Figura 8A, B), la porción ventral de la sustancia gris periacueductal

(Figura 8B, C), en la formación reticular mesencefálica (Figura 8B) y en el núcleo del nervio hipogloso (Figura 8E, F). También, se han observado fibras marcadas con CGRP junto al locus coeruleus (Figura 8C), junto al braquium conjuntivum (Figura 8C) y por debajo del núcleo vestibular medial (Figura 8D),

Hemos encontrado una baja densidad de fibras marcadas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en la porción dorsal de la sustancia gris periacueductal (Figura 8A), en el colículo superior e inferior (Figura 8A, B), la porción medial de la sustancia gris periacueductal (Figura 8B) y en la porción ventral de la sustancia gris periacueductal (Figura 8A, C), en la formación reticular de la protuberancia (Figura 8C, D), el núcleo dorsal del rafe, el cuerpo trapezoide (Figura 8B), la formación reticular bulbar (Figura 8F), núcleo cuneato (Figura 8E, F), el núcleo espinal del trigémino, el braquium conjuntivum y el núcleo principal del trigémino (Figura 8C). Además, observamos una baja densidad de fibras marcadas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina entre la oliva superior y el cuerpo trapezoide (Figura 8B). Finalmente, hemos encontrado una baja y en ocasiones escasa densidad de fibras marcadas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el núcleo del nervio troclear (Figura 8A), núcleo tegmental dorsal (Figura 8B), oliva superior (Figura 8B), núcleo prepositus (Figura 8D) y en el núcleo dorsal del nervio vago (Figura 8F).

b. Morfología

Las fibras con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina eran en su mayoría medianas, destacándose algunas fibras cortas. Estas fibras eran finas y

presentaban ramificaciones con varicosidades pequeñas (Figuras 26B-D; 27C, D). No se destaca un patrón de orientación definido en las fibras marcadas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina; presentaban una disposición perpendicular y oblicua, sin que ello signifique el predominio de un patrón específico (Tabla XIV).

c. Estudio semicuantitativo

Hemos estudiado la presencia del péptido relacionado con el gen de la calcitonina en relación con los 45 núcleos que forman el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*:

Somas

No observamos núcleos con somas inmunorreactivos en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*.

Fibras

Se observaron 18 núcleos (40%) inmunorreactivos: 2 núcleos con una densidad alta (núcleo espinal del trigémino y núcleo vestibular medial); 3 núcleos presentaron una densidad moderada y 13 núcleos presentaron una densidad baja de fibras con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (Tabla XV, gráficos 3 y 4).

TABLA XIV. FIBRAS

	Tamaño	Morfología	Orientación
Nivele anterior y posterior	C: + M/L: +++	F: + NRF: + RF: +++ VP: +++ VG: -	SO: +++

C: cortas; **F:** finas; **L:** largas; **M:** medianas; **NRF:** no ramificadas; **RF:** ramificadas; **SO:** sin patrón de orientación específico; **VG:** con varicosidades grandes; **VP:** con varicosidades pequeñas. El signo + indica la proporción relativa de las fibras con esas características (+++: la mayoría (o la totalidad); +: algunas). El signo menos, significa que no fueron observadas con esas características.

TABLA XV. Número de núcleos del tronco del encéfalo y porcentaje en donde se observó inmunorreactividad en *Saimiri sciureus* (número total de núcleos: 45).

Neuropéptido	N° Núcleos/Soma	N° Núcleos/Fibra
Leucina-encefalina	1	34
ACTH (18-39)	0	22
Metionina-encefalina	1	27
Sustancia P	0	18
Somatostatina-28 (1-12)	1	30
CGRP	0	18

Neuropéptido	% Núcleos/Soma	% Núcleos/Fibra
Leucina-encefalina	2,22	75,5534
ACTH (18-39)	0	48,88
Metionina-encefalina	2,22	60
Sustancia P	00	40
Somatostatina-28 (1-12)	2,22	66,66
CGRP	0	40

TABLA XVI. Distribución de las fibras con α -neo-endorfina y neuroquinina B en el tronco del encéfalo del hombre

Núcleo	α -neo-E		NKB	
	S	F	S	F
1(méd.Obl)	-	++	-	-
2(méd. Obl)	-	++	-	-
3 (médula)	-	+	-	-
3(méd. Obl)	-	+	-	-
4 (médula)	-	+	-	-
AccNu	-	+	-	-
ALS	-	+/++	-	+
CeGy	+	++	-	+
CTT	-	+	-	+
DAO	-	-	-	+
DCNu	-	+	-	-
DH	-	+/++	-	+
DLF	-	++	-	-
DMNu	-	++	-	+
FCu	-	+	-	-
g	-	++/+	-	+
HyNu	-	+	-	-
IC,Br	-	-	-	+
LCNu	-	-	-	-
LCSp	+	+	-	-
LL	-	-	-	-
LL,rostral	-	-	-	+
LRNu	-	+	-	-
m	-	++/+	-	+
ML	-	+	-	+
MVN	-	+	-	+
NuAm	-	++	-	-

Núcleo	α -neo-E		NKB	
	S	F	S	F
NuCu	-	+ / ++	-	+
NuGr	-	+	-	-
NuPp	-	-	-	+
PCbF	-	-	-	-
PonNu	-	-	-	+
RetF	-	+	-	+
RetSp	-	+	-	-
RuSp	-	+ / ++	-	-
SC	-	-	+	+
SCP	-	+	-	+
SolNu	-	+	-	+
SolTr	-	+	-	-
SpTh	-	+	-	+
SpTNU	-	++ / +	-	-
SpTT	-	+++ / +	-	-
SpVN	-	+	-	+
TecSp	-	-	-	-
TriMoNu	-	+	-	-
VH	-	+	-	-

A-neo-E: Alfa-neo-endorfina; **NKB:** neuroquinina B: somas y fibras (+++: alta densidad; ++ densidad moderada; +: densidad baja; +++/+ : alta densidad en mayor proporción y baja densidad en menor proporción; +++/++ : alta densidad en mayor proporción y moderada densidad en menor proporción; ++/+++ : moderada densidad en mayor proporción y alta densidad en menor proporción; ++/+ : moderada densidad en mayor proporción y baja densidad en menor proporción; +/+++ : baja densidad en mayor proporción y alta densidad en menor proporción; +/++ : baja densidad en mayor proporción y moderada densidad en menor proporción; -: ausencia).

TABLA XVII. Distribución de fibras con leucina-encefalina, hormona adrenocorticotrópica (18-39), metionina-encefalina, sustancia P, somatostatina 28 (1-12) y péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el tronco del encéfalo del mono (*Saimiri sciureus*)

Núcleo	Leu-E.		ACTH		Met-E.		SP		Som-28		CGRP	
	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F
Ann	-	++	-	+	-	++	-	+	-	++	-	-
BC	-	+	-	+	-	-	-	+	-	++	-	+
BP	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Cn	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+
CnL	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
CoS	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	++/+
CT	-	+	-	-	-	-	-	-	-	++	-	+
DBC	-	++	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-
DPy	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DR	-	++	-	-	-	-	-	+	-	++	-	+
DV	-	++	-	-	-	+/+++	-	++	-	+++/>++	-	+
FC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GC	-	+/+++	-	+	-	+++/>+++	-	+	+	++/>+	-	+/++
GM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GPo	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-
IP	-	++/>+	-	+	-	++/>+	-	-	-	++/>+	-	-
LC	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
NCI	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-	+/+++	-	+
NCS	-	++/>+	-	+	-	+++/>+++	-	-	-	++/>+	-	-
nIV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NIV	-	+	-	-	-	++/>+	-	+	-	++	-	+
NR	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Núcleo	Leu-E.		A-CTH		Met-E.		SP		Som-28		CGRP	
	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F
NSV	-	++/+	-	+	-	+/++	-	+++/+	-	+/++	-	+++/+
NTS	-	+/++	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
NVI	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
NVII	-	+	-	+	-	++	-	+	-	++	-	-
NXII	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+/++	-	++
OI	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-
OS	-	+++//+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
Pp	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
PV	-	+	-	+	-	++/+	-	-	-	+	-	++
Py	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
RetF	-	+/++	-	+	+	-	-	+	-	+/++	-	+
RL	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
RTP	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
SN	-	++/+	-	+	-	++/+	-	-	-	+	-	-
TSc	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
TTS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
VesI	-	+	-	-	-	+	-	-	-	++	-	-
VesL	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
VesM	-	+++	-	+	-	+++//+	-	++/+	-	+/+++	-	+++
VesS	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Leu-E: leucina-encefalina; **ACTH:** hormona adrenocorticotrópica (18-39); **Met-E:** metionina-encefalina; **SP:** sustancia P; **Som-28:** somatostatina-28 (1-12); **CGRP:** péptido relacionado con el gen de la calcitonina. Somas y fibras: (+++: alta densidad; ++ densidad moderada; +: densidad baja; +++/+ : alta densidad en mayor proporción y baja densidad en menor proporción; +++//+ : alta densidad en mayor proporción y moderada densidad en menor proporción; ++/+++ : moderada densidad en mayor proporción y alta densidad en menor proporción; ++/+ : moderada densidad en mayor proporción y baja densidad en menor proporción; +/+++ : baja densidad en mayor proporción y alta densidad en menor proporción; +/+ : baja densidad en mayor proporción y moderada densidad en menor proporción; -: ausencia).

IV. ABREVIATURAS UTILIZADAS EN LAS FIGURAS 1 – 8

1. Hombre

A

3	Área del núcleo espinal accesorio
4	Área postrema
AbdNr	Nervio abducens
AbdNu	Núcleo abducens
AccNu	Nucleo accesorio
ACSp	Tracto corticospinal anterior
ALS	Sistema anterolateral
AMV	Velum medular anterior
ArNu	Núcleo arcuato

C

CA	Acueducto cerebral
Cbl	Cerebelo
CC	Crus cerebri
CeGy	Sustancia gris periacueductal
CoBul	Fibras corticobulbares
CocNr	Nervio coclear
CortNig	Fibras corticonigrales
CSNu	Núcleo sensorial principal (terminación caudal)
CSp	Fibras corticoespinales

CTT	Tracto tegmental central
-----	--------------------------

D

DAO	Núcleo olivar accesorio dorsal
-----	--------------------------------

DCNu	Núcleo coclear dorsal
------	-----------------------

DLF	Fascículo longitudinal dorsal
-----	-------------------------------

DMNu	Núcleo motor dorsal del vago
------	------------------------------

DNu	Núcleo dentado
-----	----------------

DSCT	Tracto espinocerebelar dorsal
------	-------------------------------

DTTr	Tracto trigeminotalámico dorsal
------	---------------------------------

E

EAF	Fibras arcuato externas
-----	-------------------------

F

Fac, G	Nervio facial, genu interno
--------	-----------------------------

FacNr	Nervio facial
-------	---------------

FacNu	Núcleo facial
-------	---------------

FCu	Fascículo cuneato
-----	-------------------

FGr gracile	Fascículo gracili
-------------	-------------------

FPon	Fibras frontopontinas
------	-----------------------

G

g	Parte gelatinosa del núcleo espinal del trigémino
GIF	Fibras glosofaríngeas (intramedulares)
GINr	Nervio glosofaríngeo

H

HyNu	Núcleo hipogloso
------	------------------

I

IAF	Fibras internas del arcuato
IC, Br	Braquium colículo inferior
IC, CNu	Núcleo central colículo inferior
IC, Com	Comisura colículo inferior
IC, LZ	Zona lateral colículo inferior
ICP	Pedúnculo cerebelar inferior
IC, PNu	Núcleo pericentral del colículo inferior
IPFo	Fosa interpeduncular
IPNu	Núcleo interpeduncular
ISNu	Núcleo salivar inferior

J

JRB	Cuerpo juxtarestiforme
-----	------------------------

L

LCNu	Núcleo cuneato lateral
LL	Lemnisco lateral
LL, Nu	Núcleo del lemnisco lateral
LoCer	Locus ceruleus
LRNu	Núcleo reticular lateral

M

m	Parte magnocelular del núcleo espinal del trigémino
MAO	Núcleo olivar accesorio medial
MCP	Pedúnculo cerebelar medial
MesNu	Núcleo mesencefálico
MesTr	Tracto mesencefálico
ML	Lemnisco medial
MLF	Fascículo longitudinal medial
MVN	Núcleo vestibular medial

N

NigSt	Fibras nigroestriales
NuAm	Núcleo ambiguo
NuCu	Núcleo cuneato
NuGr	Núcleo gracili
NuPp	Núcleo prepositus

O

OCbF	Fibras olivocerebelares
OPon	Fibras occipitopontinas

P

PalNig	Fibras palidonigrales
PBNu	Núcleo pontobulbar
PCbF	Fibras pontocerebelares
PO	Núcleo olivar principal (inferior)
PonNu	Núcleo pontino
PPon	Fibras parietopontinas
Py	Piramides

R

RB	Cuerpo restiforme
RetF	Formación reticular
RetSp	Tracto reticuloespinal
RuSp	Tracto rubroespinal

S

SC	Colículo superior
----	-------------------

SCP	Pedúnculo cerebelar superior
SCP, Dec	Decusación del pedúnculo cerebelar superior
SM	Estrías medulares del cuarto ventrículo
SN	Sustancia negra
SO	Olive superior
SolNu	Núcleo solitario
SolTr	Tracto solitario
SpTec	Tracto espinotectal
SpTh	Tracto espinotalámico
SpTNu	Núcleo espinal del trigémino
SpTT	Tracto espinal del trigémino
SpVN	Núcleo vestibular espinal spinal (inferior)
SSNu	Núcleo salivar superior
SVN	Núcleo vestibular superior

T

TecSp	Tracto tectoespinal
TPon	Fibras temporopontinas
TrapB	Cuerpo trapezoide
TrapNu	Núcleo trapezoide
TriMoNu	Núcleo motor del trigémino (parte caudal)
TriNr	Nervio trigémino
TroNr	Nervio troclear
TroNu	Núcleo troclear

V

VCNu	Núcleo coclear ventral
VesSp	Tracto vestibuloespinal
VSCT	Tracto espinocerebelar ventral
VTr	Tracto trigeminotalámico ventral

2. Mono (*Saimiri sciureus*)**A**

NVI	Núcleo del nervio abducens
Amyg	Amígdala
Ann	Núcleo anular

B

BM	Núcleo Basal (Meynert)
BC	Brachium conjunctivum
BP	Brachium pontis

C

CA	Comisura anterior
CD	Núcleo coclear dorsal
NVIII	Núcleo del nervio coclear
Cd	Núcleo caudado
ChO	Quiasma óptico
CeL	Núcleo central lateral
CM-pf	Complejo parafascicular-centro mediano
Cn	Núcleo cuneato
CnL	Núcleo cuneato lateral

CoS	Colículo superior
CT	Cuerpo trapezoide
CV	Núcleo coclear ventral

D

DBC	Decusación del brachium conjunctivum
DG	Núcleo tegmental dorsal (Gudden)
DPy	Decusación piramidal
DV	Núcleo dorsal del nervio vago

F

NVII	Núcleo del nervio facial
FCn	Fascículo cuneato

G

GC	Sustancia gris periacueductal
GL	Núcleo geniculado lateral
GM	Núcleo geniculado medial
GP	Globo pálido
G	Núcleo gracilis
GPo	Sustancia gris pontina

H

HB	Complejo habenular
Hipp	Hipocampo
NXII	Núcleo del nervio hipogloso

I

IP	Núcleo interpeduncular
----	------------------------

L

LC	Locus coeruleus
LD	Núcleo dorsal lateral
LM	Lemnisco medial
LP	Núcleo posterior lateral

M

MD	Núcleo dorsomedial
----	--------------------

N

nIV	Nervio troclear
-----	-----------------

nV	Nervio del trigémino
nVII	Nervio facial
nVIII	Nervio estatoacústico
nXII	Nervio hipogloso
NIII	Núcleo del nervio oculomotor
NIV	Núcleo del nervio troclear
NCS	Núcleo central superior
NCI	Núcleo del Colículo inferior
NCT	Núcleo trapezoide
NR	Núcleo rojo
NSv	Núcleo espinal del trigémino
NTS	Núcleo del tracto solitario

O

OI	Núcleo Oliva inferior
OS	Núcleo Olivar superior

P

PCI	Pedúnculo cerebelar inferior
Pp	Núcleo prepositus
PTc	Núcleo pretectal
PuO	Núcleo pulvinar oral talámico

Put	Putamen
PV	Núcleo principal del trigémino
Py	Tracto piramidal

R

RL	Núcleo reticular lateral
RTP	Núcleo reticulotegmental pontino

S

SNd	Sustancia negra zona difusa
SNC	Sustancia negra (zona compacta)
ST	Estría terminalis

T

THI	Tracto habénulo-interpeduncular
TTS	Tracto tectoespinal

V

VesI	Núcleo vestibular anterior
VesL	Núcleo vestibular lateral

VesM	Núcleo vestibular medial
VesS	Núcleo vestibular superior
VLc	Núcleo lateral ventral, parte caudal
VLps	Núcleo lateral ventral, par postrema
VPI	Núcleo posteroinferior ventral
VPLc	Núcleo posterolateral ventral, parte caudal
VPM	Núcleo posteroventral medial
VPMps	Núcleo posteromedial ventral, parte parvocelular

V. ICONOGRAFÍA

Figura 1. Esquemas de la distribución de somas y fibras con α -neo-endorfina en secciones transversales del tronco del encéfalo de humano desde el nivel C1 de la médula espinal hasta el mesencéfalo según el atlas estereotático de Haines (1963). Los somas inmunorreactivos están representados por cuadrados (densidad baja); mientras que las fibras están representadas por líneas varicosas (escasas fibras o densidad baja), líneas continuas (densidad moderada) y líneas cruzadas (densidad alta).

Barra: 5 cm

Figura 2. Esquemas de la distribución de somas y fibras con α -neo-endorfina en secciones transversales del tronco del encéfalo de humano desde el nivel C1 de la médula espinal hasta el mesencéfalo según el atlas estereotáxico de Haines (1963). Los somas inmunorreactivos están representados por cuadrados (densidad baja); mientras que las fibras están representadas por líneas varicosas (escasas fibras o densidad baja), líneas continuas (densidad moderada) y líneas cruzadas (densidad alta).

Barra: 5 cm

Figura 3. Distribución de somas y fibras con leucina-encefalina en secciones transversales del tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* desde la anterioridad (A) 4.5 hasta la posterioridad (P) 5.0 según el atlas estereotáxico de Emmers y Akert (1963). Los somas inmunorreactivos están representados por cuadrados (baja densidad); mientras que las fibras están representadas por líneas varicosas (escasas fibras o baja densidad), líneas continuas (densidad moderada) y líneas cruzadas (densidad alta). La anterioridad (A) y la posterioridad (P) de cada sección están indicadas en la parte inferior derecha, representadas en mm con respecto al cero estereotáxico.

Barra: 1 cm

Figura 4. Esquema de la distribución de fibras con hormona adrenocorticotrópica (18-39) (ACTH) en secciones transversales del tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* desde la anterioridad (**A**) 4.5 hasta la posterioridad (**P**) 7.0 según el atlas estereotáxico de Emmers y Akert (1963). Las fibras están representadas por líneas varicosas (escasas fibras o baja densidad), líneas continuas (densidad moderada) y líneas cruzadas (densidad alta). La anterioridad (A) y la posterioridad (P) de cada sección están indicadas en la parte inferior derecha, representadas en mm con respecto al cero estereotáxico.

Barra: 1 cm

Figura 5. Esquema de la distribución de fibras con metionina-enkefalina en secciones transversales del tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* desde la anterioridad (A) 4.5 hasta la posterioridad (P) 6.0 según el atlas estereotáxico de Emmers y Akert (1963). Los somas están representados por cuadrados (baja densidad); mientras que las fibras están representadas por líneas varicosas (escasas fibras o baja densidad), líneas continuas (densidad moderada) y líneas cruzadas (densidad alta). La anterioridad (A) y la posterioridad (P) de cada sección están indicadas en la parte inferior derecha, representadas en mm con respecto al cero estereotáxico.

Barra: 1 cm

Figura 6. Esquema de la distribución de fibras con sustancia P en secciones transversales del tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* desde la anterioridad (A) 3.0 hasta la posterioridad (P) 5.0 según el atlas estereotáxico de Emmers y Akert (1963). Las fibras están representadas por líneas varicosas (escasas fibras o baja densidad), líneas continuas (densidad moderada) y líneas cruzadas (densidad alta). La anterioridad (A) y la posterioridad (P) de cada sección están indicadas en la parte inferior derecha, representadas en mm con respecto al cero estereotáxico.

Barra: 1 cm

Figura 7. Esquema de la distribución de fibras con somatostatina-28 (1-12) en secciones transversales del tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* desde la anterioridad (A) 4.0 hasta la posterioridad (P) 6.0 según el atlas estereotáxico de Emmers y Akert (1963). Los somas están representados por cuadrados (baja densidad); mientras que las fibras están representadas por líneas varicosas (escasas fibras o baja densidad), líneas continuas (densidad moderada) y líneas cruzadas (densidad alta). La anterioridad (A) y la posterioridad (P) de cada sección están indicadas en la parte inferior derecha, representadas en mm con respecto al cero estereotáxico.

Barra: 1 cm

Figura 8. Esquema de la distribución de fibras con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en secciones transversales del tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* desde la anterioridad (A) 3.0 hasta la posterioridad (P) 5.0 según el atlas estereotámico de Emmers y Akert (1963). Las fibras están representadas por líneas varicosas (escasas fibras o baja densidad), líneas continuas (densidad moderada) y líneas cruzadas (densidad alta). La anterioridad (A) y la posterioridad (P) de cada sección están indicadas en la parte inferior derecha, representadas en mm con respecto al cero estereotámico.

Barra: 1 cm

Figura 9. Plano frontal del nivel C1 de la médula espinal de acuerdo con el atlas estereotáxico de Haines (1963) (A). Las fotografías mostradas en B-F, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Soma (cabeza de flecha) marcado con α -neo-endorfina, localizado en el tracto corticoespinal lateral en límites con el área del núcleo accesorio espinal (D y E). La zona delimitada por el recuadro en D, está ampliada en E. Fibras (Flechas) marcadas con este neuropeptido en la porción gelatinosa del núcleo espinal del trigémino (1) (B y C) y en el asta dorsal en límites con el LCSp (F). **LCSp:** tracto corticoespinal lateral. Las flechas en el margen superior derecho e izquierdo indican la orientación según las letras (D: dorsal, L: lateral; M: medial).

Barra: 5 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 10. Plano frontal a nivel de la transición bulbo-médula espinal del tronco del encéfalo humano de acuerdo con el atlas estereotáxico de Haines (1963) (A). Las fotografías mostradas en B-F, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (Flechas) marcadas con α -neo-endorfina en la porción magnocelular del núcleo espinal del trigémino (B y C), en la sustancia gris periacueductal (D y E) y en el núcleo gracilis (F). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C, y la zona delimitada por el recuadro en D, esta ampliada en E. Las flechas en el margen superior derecho e izquierdo indican la orientación según las letras (D: dorsal, L: lateral; M: medial).

Barra: 5 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 11. Plano frontal que corresponde a una porción rostral del bulbo raquídeo del tronco del encéfalo humano de acuerdo con el atlas estereotáxico de Haines (1963) (A). Las fotografías mostradas en B-F, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con α -neo-endorfina en el núcleo motor dorsal del vago (B y C), núcleo vestibular medial (D y E) y en la formación reticular (F). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C, mientras que la zona delimitada por el recuadro en D, esta ampliada en E. Las flechas en el margen superior derecho e izquierdo indican la orientación según las letras (D: dorsal, L: lateral; M: medial). Barra: 5 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 12. Plano frontal que corresponde a la porción mesencefálica del tronco del encéfalo humano de acuerdo con el atlas estereotáxico de Haines (1963) (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Imagen aumentada de un soma inmunomarcado con NKB en el colículo superior (D). Fibras (flechas) marcadas con NKB, localizadas en la sustancia gris periacueductal (B y C). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (D: dorsal, L: lateral).

Barra: 5 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 13. Plano frontal (anterioridad 4.5) que corresponde a la porción mesencéflica del tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-F, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con leucina-encefalina localizadas alrededor del núcleo interpeduncular (B y C), en el núcleo interpeduncular (D) y en la sustancia negra (E y F). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C; mientras que la zona delimitada por el recuadro en E, está ampliada en F. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (L: lateral, V: Ventral).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 14. Plano frontal (anterioridad 0.5) que corresponde a la porción mesencéflica del tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-F, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Soma (cabeza de flecha) marcado con leucina-encefalina en el colículo superior (D). Fibras (flechas) marcadas con leucina-encefalina localizadas en el núcleo anular (B y C), colículo superior (D) y sustancia gris periacueductal (E y F). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C; mientras que la zona delimitada por el recuadro en E, está ampliada en F. **NIII:** núcleo oculomotor; **AS:** acueducto de Silvio. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (L: lateral, V: Ventral).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 15. Plano frontal (posterioridad 5.0) que corresponde a la porción del bulbo raquídeo del tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con leucina-enkefalina localizadas en el núcleo espinal del trigémino (B y C) y formación reticular (D). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C. **NSv:** núcleo espinal del trigémino. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (D: dorsal, L: lateral).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 16. Plano frontal (anterioridad 3.0) que corresponde a la porción del mesencéfalo del tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-F, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con hormona adrenocorticotrópica (18-39) localizadas en la sustancia gris periacueductal (B y C), núcleo anula (D y E) y entre el lemnisco medial y el núcleo anular (F). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C. mientras que la zona delimitada en por el recuadro en D, está ampliada en E. **AS:** acueducto de Silvio; **Ann:** núcleo anular. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (D: dorsal, L: lateral; M: medial).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 17. Plano frontal (posterioridad 2.0) que corresponde a la porción la protuberancia del tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con hormona adrenocorticotrópica (18-39) localizadas en el núcleo vestibular lateral (B y C) y en la formación reticular (D). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (D: dorsal, M: medial).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 18. Plano frontal (anterioridad 4.5) que corresponde a la porción mesencefálica del tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con metionina-encefalina localizadas junto al núcleo interpeduncular (B y C) y en la sustancia negra (alto aumento) (D). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C. **IP:** núcleo interpeduncular. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (L: lateral, V: ventral).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 19. Plano frontal (anterioridad 3.0) que corresponde a la porción mesencefálica del tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Soma (cabeza de flecha) marcado con metionina-enkefalina localizado por encima del lemnisco medial (B). Imágenes en alto aumento de fibras (flechas) marcadas con metionina-enkefalina localizadas en la sustancia gris periacueductal (C) y en la sustancia gris pontina (D). **AS:** acueducto de Silvio. Las flechas en el margen superior derecho e izquierdo indican la orientación según las letras (D: dorsal, L: lateral; M: medial). Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 20. Plano frontal (posterioridad 3.0) que corresponde a la porción de la protuberancia del tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con metionina-encefalina localizadas en el núcleo vestibular medial (VesM) (B) y el núcleo espinal del trigémino (NSv) (C y D). La zona delimitada por el recuadro en C, está ampliada en D. **VesM:** núcleo anular; **NSv:** núcleo espinal del trigémino. Las flechas en el margen superior derecho e izquierdo indican la orientación según las letras (D: dorsal, M: medial).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 21. Plano frontal (anterioridad 0.5) que corresponde a la porción mesencefálica del tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con sustancia P localizadas en la sustancia gris periacueductal (B y C) y alrededor del braquium conjuntivum (D). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C. **AS:** acueducto de Silvio; **BC:** Braquium conjuntivum. Las flechas en el margen superior derecho e izquierdo indican la orientación según las letras (D: dorsal, M: medial).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 22. Plano frontal (posterioridad 5.0) que corresponde a la porción del bulbo raquídeo en tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con sustancia P localizadas en el núcleo hipogloso (B y C) y en la formación reticular (D). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C. **NXII:** nervio hipogloso. Las flechas en el margen superior derecho e izquierdo indican la orientación según las letras (D: dorsal, M: medial).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 23. Plano frontal (anterioridad 1.5) que corresponde a la porción mesencefálica del tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con somatostatina-28 (1-12) localizadas en la sustancia gris periacueductal (B y C) y en el núcleo central superior. La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C. **AS:** acueducto de Silvio. Las flechas en el margen superior derecho e izquierdo indican la orientación según las letras (D: dorsal, L: lateral; M: medial, V: ventral).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 24. Plano frontal (posterioridad 0.5) que corresponde a la porción de la protuberancia en el tronco del encéfalo de *Saimirí sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Soma marcado con somatostatina-28 (1-12) localizado en la sustancia gris periacueductal (B y C). Fibras (flechas) marcadas con somatostatina-28 (1-12) localizadas en la línea media de la protuberancia (D). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (D: dorsal; M: medial).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 25. Plano frontal (posterioridad 6.0) que corresponde a la porción del bulbo raquídeo en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con somatostatina-28 (1-12) localizadas la formación reticular (B) y alrededor del canal central (Cc) (C y D). La zona delimitada por el recuadro en C, está ampliada en D. **Cc:** canal central. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (D: dorsal, V: ventral).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 26. Plano frontal (anterioridad 0.5) que corresponde a la porción mesencefálica del tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con CGRP localizadas en la sustancia gris periacueductal (B) y alrededor del braquium conjuntivum (BC) (C y D). La zona delimitada por el recuadro en C, está ampliada en D. **BC:** Braquium conjuntivum. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (D: dorsal, L: lateral).
Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

Figura 27. Plano frontal (posterioridad 0.5) que corresponde a la porción del bulbo raquídeo en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* (A). Las fotografías mostradas en B-D, fueron tomadas en las regiones delimitadas en el esquema. Fibras (flechas) marcadas con CGRP localizadas en el núcleo vestibular medial (VesM) (B y C) y en el núcleo espinal del trigémino (D). La zona delimitada por el recuadro en B, está ampliada en C. **VesM:** núcleo vestibular medial; **NTS:** núcleo del tracto solitario. Las flechas en el margen superior derecho indican la orientación según las letras (D: dorsal, L: lateral; M: medial).

Barra: 1 cm (esquema) – 50 μ m (imágenes)

VI. DISCUSIÓN

1. Distribución de neuropeptidos en el tronco del encéfalo del hombre

1.1 α -neo-endorfina

En general, hemos encontrado una amplia distribución de fibras marcadas con α -neo-endorfina en los diferentes niveles del tronco del encéfalo del hombre, evidenciándose un mayor número de fibras en la zona más caudal del bulbo raquídeo (nivel C1) (ver Figura 1A) y en la protuberancia (ver Figura 1B-H). Sin embargo, la presencia de somas con α -neo-endorfina es escasa; esto es probablemente debido a que no se administró colchicina.

El número de fibras marcadas con α -neo-endorfina que se observaron en el tronco del encéfalo del hombre eran más numerosas en las porciones dorsales y mediales de los distintos niveles mesencefálicos y protuberanciales. A nivel bulbar se observaron numerosas fibras inmunomarcadas en las porciones dorsal, medial y ventral.

El hecho de que no existan trabajos previos acerca de la distribución de somas y/o fibras marcadas con α -neo-endorfina en el tronco del encéfalo del hombre, usando técnicas inmunocitoquímicas, radioinmunoensayo, autoradiografía o HPLC, entre otras, nos impide discutir más a fondo nuestros resultados sobre la distribución de este neuropeptido. Sin embargo, nuestro grupo ha realizado recientemente un trabajo de investigación sobre la presencia de α -neo-endorfina en el tronco del encéfalo del mono

Macaca fascicularis, tras aplicar una técnica de inmunocitoquímica (Coveñas et al., 2008). Los resultados de este trabajo permiten establecer que la distribución de estructuras peptidérgicas inmunomarcadas con α -neo-endorfina en el tronco del encéfalo del hombre y del mono *Macaca fascicularis* es amplia, sin embargo la densidad de somas y/o fibras marcadas con este neuropéptido es mayor en el hombre que en *M. fascicularis*. Se destaca la presencia de somas marcados con este neuropéptido por ejemplo, en la sustancia gris periacueductal. También, observamos fibras marcadas tanto en el tronco del encéfalo del hombre como en el del mono *Macaca fascicularis* en la sustancia gris periacueductal, núcleo espinal del trigémino y en la formación reticular mesencefálica. Teniendo en cuenta que en ninguno de los dos casos (*Macaca fascicularis* y hombre) se administró colchicina, podemos afirmar, que las diferencias en cuanto a la distribución de los somas marcados con este neuroeéptido, posiblemente se debe a que existen diferencias entre las especies y no a la metodología utilizada (ej., fijación, anticuerpos utilizados, técnica inmunocitoquímica...).

En resumen, este trabajo expone por primera vez los resultados de un estudio inmunocitoquímico sobre la distribución de somas y/o fibras marcadas con α -neo-endorfina en el tronco del encéfalo del hombre.

1.2 Neuroquinina B (NKB)

Un estudio reciente realizado por nuestro grupo ha demostrado la presencia de neuroquininas en el tronco del encéfalo del hombre, usando una técnica

inmucitoquímica (Coveñas et al, 2003a). Teniendo en cuenta la especificidad del anticuerpo, en ese trabajo no se pudo establecer la distribución de manera detallada de la neuroquinina B, debido a que el anticuerpo primario utilizado, reconocía principalmente a la neuroquinina A y presentaba una ligera reacción cruzada con la neuroquinina B (ver metodología en Coveñas et al., 2003a). Esto nos ha llevado a estudiar a fondo la distribución de somas y/o fibras marcados con neuroquinina B en el tronco del encéfalo del hombre, con el fin de aportar datos más concretos acerca de la presencia de este neuropeptido. Si comparamos nuestros resultados sobre la distribución de neuroquinina B en el tronco del encéfalo del hombre, con los obtenidos por Coveñas et al., (2003a) en cuanto a la distribución de neuroquinina A en el tronco del encéfalo humano, podemos afirmar que la distribución de somas y/o fibras marcadas con neuroquinina B es mucho menor que la distribución de neuroquinina descrita por Coveñas et al., (2003a): encontramos una densidad baja de somas marcados con neuroquinina B en el colículo superior, así como una densidad baja de fibras en todos los niveles estudiados (desde el mesencéfalo hasta el nivel más caudal del bulbo raquídeo (nivel C1)).

En resumen, si bien se ha descrito previamente la presencia de neuroquininas en el tronco del encéfalo del hombre (Coveñas et al., 2003a), este trabajo aporta datos más concretos sobre la distribución de neuroquinina B en el tronco del encéfalo humano. De hecho, es la primera vez que se describe con certeza la presencia de neuroquinina B en el tronco del encéfalo del hombre. Así, los resultados obtenidos demuestran una muy baja densidad de estructuras inmunomarcadas con este neuropeptido; destacándose la presencia de fibras marcadas a nivel mesencefálico y protuberancial.

2. Relación anatómica de los neuropéptidos α -neo-endorfina y neuroquinina B con otros neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre

Los somas marcados con α -neo-endorfina en el tronco del encéfalo del hombre observados en este trabajo presentan tamaños medianos y morfología piriforme (ver Tabla I). Estos cuerpos neuronales fueron observados en regiones como el tracto corticoespinal lateral y en la sustancia gris periacueductal. Se ha descrito, aplicando técnicas inmunocitoquímicas, la presencia de somas con taquiquininas (neuroquinina A/B, sustancia P) (Nomura et al., 1982; del Fiacco et al., 1983, 1984; Bouras et al., 1986; Chigr et al., 1991; Coveñas et al., 2003a), metionina- encefalina-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸ (Coveñas et al 2004) o colecistoquinina (Fodor et al., 1992), en la sustancia gris periacueductal del hombre. Esto sugiere que puede existir una relación anatómica y posiblemente funcional entre estos neuropéptidos y la α -neo-endorfina en la sustancia gris periacueductal.

De la amplia distribución que presenta las fibras marcadas con α -neo-endorfina, se destaca la alta o moderada densidad observadas en la sustancia gris periacueductal, en el núcleo espinal del trigémino, el núcleo motor dorsal del vago y en el tracto espinal del trigémino. Además, en los dos primeros núcleos del tronco del encéfalo del hombre se ha descrito la presencia de sustancia P (Nomura et al., 1987; Rikard-Bell et al., 1990; Wang et al 1993). Hecho que indica la posible coexistencia entre estos dos neuropéptidos, así como su posible relación funcional.

Finalmente, si comparamos los resultados sobre la distribución de α -neo-endorfina y neuroquinina B, podemos afirmar que existe una mayor distribución de fibras marcadas con α -neo-endorfina que con neuroquinina B. Sin embargo, existen algunos núcleo y regiones en donde observamos la presencia tanto de α -neo-endorfina como de neuroquinina B, por ejemplo, en la porción gelatinosa y en la porción magnocelular del núcleo espinal del trigémino, en el núcleo motor dorsal del vago, en el núcleo vestibular medial, en el lemnisco medial, en la formación reticular de la protuberancia, en la sustancia gris periacueductal y en el pedúnculo cerebelar superior (braquium conjunctivum). Además, observamos regiones con somas y/o fibras marcadas para neuroquinina B, pero no para α -neo-endorfina, por ejemplo, en el colículo superior, núcleo pontino y en las fibras pontocerebelares.

3. Distribución de neuropeptidos en el tronco del encéfalo del mono (*Saimiri sciureus*)

En esta tesis hemos realizado el estudio de somas y fibras marcadas con seis neuropeptidos en el tronco del encéfalo del mono (*Saimiri sciureus*): leucina-encefalina, hormona adrenocorticotrópica (18-39), metionina-encefalina, sustancia P, somatostatina-28 (1-12) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina. En todos los casos es la primera vez que realiza un estudio detallado sobre la distribución de las fibras y somas que contienen los mencionados neuropeptidos en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*, tras aplicar una técnica inmunocitoquímica.

En general, hemos encontrado una amplia distribución de fibras inmunorreactivas con los seis neuropéptidos estudiados en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*, destacándose un gran número de fibras marcadas en las porciones dorsales y mediales de los diferentes niveles analizados (anteriores y posteriores). Sin embargo, sólo encontramos somas inmunomarcados con leucina-enkefalina, metionina-enkefalina y somatostatina-28 (1-12). Los primeros localizados en el colículo superior; los segundos encima del lemnisco medial y entre el lemnisco medial y el núcleo anular; y los terceros en la sustancia gris periacueductal y en la porción dorsal de la línea media de la protuberancia. Hay que resaltar, que a los monos utilizados en este estudio no se les administró colchicina, razón por la cual se observó tan bajo número de somas marcados en el tronco del encéfalo.

4. Relación anatómica entre los seis neuropéptidos estudiados en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*

Como hemos indicado anteriormente, hemos encontrado una distribución muy reducida y una baja densidad de somas marcados con los seis neuropéptidos estudiados en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*. Hemos observado somas peptidérgicos con leucina-enkefalina, metionina-enkefalina y somatostatina-28 (1-12), dichos somas se han localizado en diferentes núcleos como por ejemplo, colículo superior, junto al lemnisco medial, junto al núcleo geniculado medial, sustancia gris periacueductal y la porción dorsal de la línea media. Sin embargo, se han observado

fibras marcadas con los seis neuropeptidos estudiados en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* en los mismos núcleos como por ejemplo, sustancia gris periacueductal, núcleo espinal del trigémino y núcleo vestibular medial (tabla XVII), lo que sugiere una relación anatómica y una posible implicación funcional.

En resumen, podemos afirmar que en general existe una gran similitud en la distribución de las fibras inmunorreactivas peptidérgicas que contienen los seis neuropeptidos estudiados en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*. Esta estrecha relación anatómica sugiere que podría haber coexistencia de dos o más neuropeptidos, así como existir una implicación funcional entre los neuropeptidos estudiados en este trabajo.

5. Comparación de la distribución de neuropeptidos en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* con otros mamíferos

En este apartado de la discusión, compararemos los datos obtenidos sobre la distribución y densidad de los neuropeptidos que hemos estudiado en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*, con los datos que existen sobre esos mismos neuropeptidos en el tronco del encéfalo de otras especies de mamíferos.

5.1 Encefalinas: leucina-encefalina y metionina-encefalina

En este apartado discutiremos de manera conjunta los resultados existentes sobre los dos mencionados neuropéptidos, miembros de la familia de los péptidos opiáceos, ya que muchos resultados publicados previamente en el sistema nervioso central del mono y del hombre han sido sobre la presencia de encefalinas, sin especificar si se debe el marcaje descrito a la leucina-encefalina y/o a la metionina-encefalina.

Mono

Diversos autores han descrito la presencia de somas neuronales con encefalinas en el encéfalo de los monos *Macaca fascicularis* y *Cercopithecus aethiops* (Haber y Elde, 1982). Estos resultados confirman la presencia de encefalinas en regiones del tronco del encéfalo, como por ejemplo, el núcleo espinal del trigémino, núcleo del tracto solitario, formación reticular de la protuberancia y del bulbo raquídeo y en el locus coeruleus. Si comparamos estos resultados con nuestras observaciones sobre la presencia de somas y/o fibras marcadas con leucina-encefalina o con metionina-encefalina en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*, podemos afirmar, que aunque no encontramos somas marcados con los dos neuropéptidos en los núcleos mencionados anteriormente en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*, sí observamos en ellos fibras inmunomarcadas tanto con leucina-encefalina como con metionina-encefalina. Es importante resaltar que en el trabajo realizado por Haber y Elde (1982) se utilizó colchicina, mientras que en nuestro trabajo no la utilizamos. Así, hemos observado somas con leucina-encefalina en el colículo superior, así como somas con metionina-

encefalina junto al núcleo geniculado medial y entre el lemnisco medial y el núcleo anular; zonas en las cuales Haber y Elde (1982) no observaron somas encefalinérgicos.

Hemos de destacar la gran similitud que existe entre la distribución de las fibras con leucina-encefalina y la de las fibras con metionina-encefalina en el tronco del encéfalo de los monos *Macaca fascicularis*, *Cercopithecus aethiops* y *Saimiri sciureus*. Sin embargo, la densidad de los somas inmunorreactivos varía considerablemente, ya que en las dos primeras especies mencionadas el número de cuerpos neuronales encefalinérgicos encontrado fue mayor que los observados en *Saimiri sciureus*.

Alpaca

Nuestro grupo ha realizado un estudio sobre la distribución de leucina-encefalina en el tronco del encéfalo de la alpaca, tras aplicar una técnica inmunocitoquímica (de Souza et al., 2007). Los resultados obtenidos en este estudio muestran una amplia distribución de fibras inmunomarcadas con leucina-encefalina, destacándose la presencia de fibras marcadas en regiones como por ejemplo, sustancia gris periacueductal, braquium conjuntivum, núcleo espinal del trigémino, alrededor del braquium conjuntivum, núcleo interpeduncular, núcleo facial y formación reticular mesencefálica, protuberancial y bulbar. Estos datos concuerdan con los resultados que hemos obtenido en nuestro estudio, ya que hemos encontrado fibras con leucina-encefalina en dichas regiones/núcleos. Sin embargo, existen algunas diferencias, ya que hemos encontrado en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* fibras con leucina-encefalina en el colículo inferior, oliva superior, núcleo central superior, núcleo vestibular medial y sustancia negra; mientras que en la alpaca no se observaron

estructuras inmunomarcadas en dichas zonas. En el tronco del encéfalo de ambas especies (*Saimiri sciureus* y alpaca), se observaron escasos somas con leucina-encefalina. En *Saimiri sciureus* se localizaron en el colículo superior, mientras que en la alpaca se observaron junto al núcleo facial y en la sustancia gris periacueductal.

En resumen, la distribución de leucina-encefalina en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* y de la alpaca es muy similar.

Hombre

Tras utilizar técnicas inmunocitoquímicas se ha demostrado la presencia de fibras con leucina-encefalina en el encéfalo humano (Fodor et al., 1992). Este trabajo describe fibras con leucina-encefalina en el lemnisco medial, locus coeruleus y alrededor del braquium conjuntivum. En nuestro trabajo observamos fibras marcadas con leucina-encefalina en estas mismas zonas. Además, podemos afirmar que la densidad de fibras marcadas con leucina-encefalina en el hombre es mucho mayor que en el mono *Saimiri sciureus*; esto se debe posiblemente a diferencias propias entre las especies. También, se ha descrito la presencia de leucina-encefalina/metionina-encefalina y/o receptores opiáceos en el encéfalo del hombre, tras aplicar técnicas inmunocitoquímicas y/o radioinmunoensayo (Bouras et al., 1984 Pittius et al., 1984; Rinne et al., 1993a, b). En estos trabajos se describen estructuras inmunomarcadas y/o receptores para encefalinas en la sustancia negra (zona compacta), núcleo interpeduncular, braquium conjuntivum, locus coeruleus y en el lemnisco medial; datos que concuerdan en general con nuestras observaciones, ya que encontramos somas y/o fibras marcadas con leucina-encefalina

y/o con metionina-encefalina en algunos de estos núcleos. Así, en nuestro estudio no observamos fibras con metionina-encefalina en el locus coeruleus. Además, hemos encontrado somas marcados con metionina-encefalina junto al lemnisco medial, resultados que difieren con los expuestos en los trabajos mencionados anteriormente (Bouras et al., 1984 Pittius et al., 1984; Fodor et al., 1992).

En resumen, si bien la distribución de las fibras con leucina-encefalina o metionina-encefalina en el tronco del encéfalo del mono y del hombre fueron en términos generales amplia y con una relación anatómica muy estrecha, podemos destacar algunas diferencias como por ejemplo, la presencia de somas marcados con leucina-encefalina (colículo superior) y metionina-encefalina (sustancia gris periacueductal y línea media de la protuberancia) en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*, pero no en el tronco del encéfalo del hombre.

5.2 Hormona adrenocorticotrópica (18-39) (ACTH)

Mono

Se ha demostrado en *Macaca mulatta* que las neuronas hipotalámicas que contienen pro-opiomelanocortina, envían sus proyecciones hacia la sustancia gris periacueductal, núcleo del tracto solitario y alrededor del braquium conjuntivum (Khachaturian et al., 1984). Además, estudios recientes realizados por nuestro grupo en el tronco del encéfalo de *Macaca fascicularis* (Coveñas et al, 2008) han demostrado la presencia de neuropeptidos derivados de la pro-opiomelanocortina (hormona

adrenocorticotrópica (18-39) y β -endorfina) en la sustancia gris periacueductal, núcleo del tracto solitario y alrededor del braquium conjuntivum tras utilizar una técnica inmunocitoquímica. Estos datos concuerdan con los resultados que hemos observado en *Saimiri sciureus*, en donde encontramos fibras inmunorreactivas en estas mismas zonas.

Si comparamos nuestro estudio sobre la presencia de somas y/o fibras marcadas con la hormona adrenocorticotropa (18-39) en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*, con los resultados obtenidos por Coveñas et al., 2008 sobre el mismo neuropéptido en el tronco del encéfalo de *Macaca fascicularis*, podemos afirmar que la distribución de la hormona adrenocorticotropa (18-39) en *Saimiri sciureus* es mucho más amplia que la observada en *Macaca fascicularis*. Sin embargo, en ambos casos podemos observar fibras marcadas con este neuropéptido en el colículo superior e inferior, formación reticular y en el núcleo vestibular medial. Además, nosotros hemos encontrado somas marcados con este neuropéptido en la sustancia gris periacueductal y en la línea media de la protuberancia de *Saimiri sciureus*, mientras que en el estudio realizado por Coveñas et al. (2008) no observaron somas marcados con hormona adrenocorticotropa (18-39) en el tronco del encéfalo del mono *Macaca fascicularis*.

Finalmente, hemos de destacar que tanto en el trabajo realizado por Coveñas et al. (2008) como en el presente estudio no se administró colchicina. Por lo tanto, nuestro estudio describe por primera vez la presencia de somas marcados con hormona adrenocorticotropa (18-39) en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*.

Gato

En comparación con estudios inmunocitoquímicos previos sobre la presencia de la hormona adrenocorticotropa en el sistema nervioso central del gato (Rao et al., 1986) y en el tronco del encéfalo del mismo felino (Coveñas et al., 1997), se puede concluir que la distribución de las fibras con hormona adrenocorticotropa (18-39) y la densidad de las mismas en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* es mucho menos amplia que la observada en el gato. Rao et al. (1986) describen la presencia de somas marcados con hormona adrenocorticotropa en el hipotálamo basal y medial y en el extremo rostrocaudal de las áreas ventral y medial del núcleo infundibular; además, describen fibras marcadas con dicha hormona en áreas del tronco del encéfalo como por ejemplo, sustancia gris periacueductal, núcleo central superior, núcleo cuneiforme, locus coeruleus, el núcleo marginal del braquium conjuntivum y el núcleo del tracto solitario. Además, Coveñas et al. (1997) describen la existencia de fibras marcadas con hormona adrenocorticotropa, por ejemplo, en la sustancia gris periacueductal, formación reticular mesencefálica, protuberancial y bulbar, en el núcleo interpeduncular, colículos superior e inferior, núcleo motor dorsal del vago, núcleo dorsal del rafe, núcleo espinal del trigémino, núcleo cuneato y en el braquium conjuntivum. En el presente estudio sólo se observaron fibras inmunomarcadas con hormona adrenocorticotropa (18-39) en la sustancia negra, en el núcleo central superior, sustancia gris periacueductal, braquium conjuntivum, formación reticular mesencefálica, protuberancial y bulbar, núcleo espinal del trigémino, núcleo del tracto solitario y en el núcleo hipogloso.

En resumen, en el tronco del encéfalo del gato sólo se observaron fibras con hormona adrenocorticotropa (Rao et al., 1986; Coveñas et al., 1997); datos que

concuerdan con nuestro estudio en donde sólo observamos fibras marcadas con hormona adrenocorticotropa (18-39) en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*. En importante resaltar que en los trabajos realizados en el gato por Rao et al. (1986) y por Coveñas et al. (1997) se administró colchicina. Además, si bien en el sistema nervioso central del gato la distribución de la hormona adrenocorticotropa es mucho mayor que en el mono *Saimiris sciureus*, existen fibras con hormona adrenocorticotropa en los mismos núcleos como por ejemplo, sustancia gris periacueductal, núcleo interpeduncular, núcleo espinal del trigémino, núcleo central superior y en la formación reticular.

Hombre

Zaphiropoulos et al. (1991) han demostrado la presencia de la hormona adrenocorticotropa en el encéfalo humano, tras aplicar una técnica inmunocitoquímica. En este trabajo se observaron fibras inmunorreactivas en núcleos como por ejemplo, el colículo superior e inferior, sustancia gris periacueductal, núcleo interpeduncular, núcleo cuneiforme, locus coeruleus, núcleo marginal del braquium conjuntivum, núcleo del tracto solitario, núcleo reticular lateral y en el núcleo ambiguo. Si comparamos estos datos con nuestros resultados podemos afirmar que la distribución de fibras marcadas con hormona adrenocorticotropa en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* y en el hombre es muy amplia. En general, hemos observado en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* fibras marcadas con hormona adrenocorticotropa (18-39) en el núcleo interpeduncular, núcleo rojo, sustancia negra, sustancia gris periacueductal, núcleo anular, colículo superior e inferior, formación reticular mesencefálica, protuberancial y bulbar, núcleo vestibular medial, núcleo del tracto solitario, núcleo

espinal del trigémino, núcleo central superior, núcleo hipogloso, oliva inferior y en el núcleo dorsal del vago. Existen algunas diferencias en la distribución de las fibras con hormona adrenocorticotropa en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* y el hombre; por ejemplo, en el hombre no se observaron fibras marcadas con este neuropeptido en el núcleo vestibular medial, núcleo central superior, núcleo anular y en el núcleo dorsal del vago; mientras que en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* no se observaron fibras marcadas con hormona adrenocorticotropa (18-39) en núcleos como la oliva superior y en el locus coeruleus.

En resumen, nuestro estudio demuestra que la distribución de las fibras con la hormona adrenocorticotropa (18-39) en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* es muy similar en comparación con la distribución que presentan las fibras que contienen este neuropeptido en el tronco del encéfalo humano.

5.3 Sustancia P

Mono

Hay pocos estudios sobre la distribución de sustancia P en el tronco del encéfalo del mono. Así, se ha descrito la presencia de sustancia P usando técnicas inmunocitoquímicas en la sustancia negra del mono *Macaca fascicularis* (Diffligia et al., 1981). También, mediante autorradiografía se ha demostrado la presencia de receptores para sustancia P en el núcleo cuneato y núcleo gracilis en la especie *Macaca*

nemestrina (Schwark et al., 1998), datos que concuerdan con nuestros resultados, ya que hemos observado fibras marcadas con sustancia P en el núcleo cuneato. Así, es la primera vez que se realiza un estudio detallado sobre la distribución de sustancia P en el tronco delo encéfalo del mono *Saimiri sciureus*, tras aplicar una técnica inmunocitoquímica. Los resultados obtenidos destacan la presencia de fibras con este neuropéptido en la sustancia gris periacueductal, colículo superior, formación reticular de la protuberancia, formación reticular bulbar, nervio facial, oliva inferior, núcleo del nervio troclear, braquium conjuntivum, núcleo dorsal del rafe, núcleo vestibular medial, núcleo motor dorsal del vago, núcleo cuneato, núcleo vestibular lateral, oliva superior, núcleo espinal del trigémino y en el núcleo hipogloso.

Hombre

Existen publicados numerosos estudios sobre la distribución de sustancia P en el tronco del encéfalo del hombre (Nomura et al., 1982, 1987; del Fiaccio et al., 1983, 1984; Bouras et al., 1986; Rikard-Bell et al., 1990; Chigr et al., 1991; Halliday et al., 1990; Baker et al., 1991; Wang et al., 1992a, b, 1993; Jordan et al., 1995). En algunos de estos estudios (del Fiaccio et al., 1984; Bouras et al., 1986 Baker et al., 1991; Chigr et al., 1991) se ha descrito una alta densidad de somas marcados con sustancia P. Por ejemplo, dichos somas se han localizado en el colículo superior, sustancia gris periacueductal, el núcleo del tracto solitario, núcleo interpeduncular, núcleo dorsal del rafe y en la formación reticular mesencefálica. Estos resultados contrastan con los nuestros, ya que en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* no observamos somas inmunomarcados para la sustancia P. Es importante destacar que en ninguna de las dos especies (hombre y *Saimiri sciureus*) fue inyectada colchicina. Por lo tanto, se

puede afirmar que las diferencias encontradas entre el hombre y el mono *Saimiri sciureus* se deben probablemente a las diferencias existentes entre ambas especies, aunque las diferencias metodológicas (ej., anticuerpo utilizado...) pueden ser también la causa de dichas diferencias. También, se ha descrito en humanos (del Fiacco et al., 1984; Rikard-Bell et al., 1990; Wang et al., 1992 a, b, 1993) la presencia de fibras marcadas con sustancia P en zonas como por ejemplo, el núcleo espinal del trigémino, nervio trigémino, núcleo motor dorsal del vago, sustancia negra, núcleo interpeduncular, núcleo solitario, braquium conjuntivum, alrededor del braquium conjuntivum y en el núcleo del tracto solitario. Existe una gran similitud entre los resultados descritos anteriormente en el hombre y los observados en *Saimiri sciureus*, ya que hemos encontrado fibras marcadas con sustancia P en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* en la sustancia negra, sustancia gris periacueductal, núcleo interpeduncular, núcleo del tracto solitario, núcleo motor dorsal del vago, braquium conjuntivum, alrededor del braquium conjuntivum y en el núcleo espinal del trigémino. Sin embargo, existen algunas diferencias, por ejemplo, en el hombre no se observaron fibras marcadas con sustancia P en el núcleo central superior, núcleo anular y en el núcleo rojo; mientras que en el mono *Saimiri sciureus* sí observamos fibras con el neuropeptido en estos núcleos. Finalmente, Jordan et al. (1995) han demostrado la presencia de sustancia P en el locus coeruleus y en la oliva inferior. En *Saimiri sciureus*, observamos fibras marcadas con sustancia P en la oliva inferior, pero no en el locus coeruleus.

En resumen, la distribución de las estructuras inmunomarcadas con sustancia P en el tronco del encéfalo del hombre y del mono *Saimiri sciureus* es muy similar; sin embargo, la distribución de somas con sustancia P en el tronco del encéfalo del mono es

más amplia en el hombre que en *Saimiri sciureus*. Además, la presencia de somas marcados con sustancia P en el tronco del encéfalo del hombre, indica que pueden existir diferencias entre las especies, ya que en ningún caso se inyectó colchicina.

5.4 Somatostatina-28 (1-12)

Mono

Un estudio inmunocitoquímico realizado por nuestro grupo en el tronco del encéfalo de el mono *Macaca fascicularis* (Coveñas et al., 2008) ha demostrado la presencia de somas y fibras marcadas con somatostatina-28 (1-12). La densidad de somas marcados con somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo del mono *Macaca fascicularis*, es mucho mayor que la observada en la especie *Saimiri sciureus*. Así, en *Macaca fascicularis* observamos una densidad alta de somas con somatostatina-28 (1-12) en la sustancia gris periacueductal y en el núcleo interpeduncular, mientras que en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* encontramos una baja densidad de somas marcados con somatostatina-28 (1-12) en la sustancia gris periacueductal y en la porción dorsal de la línea media a nivel de la protuberancia. Si bien la densidad de somas difiere en las dos especies, la distribución de las estructuras peptidérgicas en *Saimiri sciureus* y en *Macaca fascicularis*, es muy amplia. Es importante destacar que en ninguno de los dos trabajos se inyectó colchicina, lo que sugiere que el contraste en cuanto a la densidad de somas marcados observados en los dos monos, se debe probablemente a diferencias entre las especies y no a la metodología utilizada, ya que en los dos trabajos se aplicó la misma metodología. En cuanto a la distribución de fibras

marcadas con somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* y *Macaca fascicularis*, podemos afirmar que es muy amplia en ambos casos. Así encontramos fibras marcadas con este neuropeptido en el tronco del encéfalo de las dos especies, en los mismos núcleos/trectos como por ejemplo, núcleo central superior, sustancia gris periacueductal, braquium conjuntivum, colículo superior e inferior, núcleo espinal del trigémino, núcleo vestibular medial, núcleo del tracto solitario, núcleo hipogloso, oliva inferior y en la formación reticular (mesencéfala, protuberancial y bulbar). Sin embargo, podemos encontrar algunas diferencias, ya que en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* observamos fibras con somatostatina-28 (1-12) en el núcleo reticular tegmental pontino, oliva superior y en el núcleo del nervio facial; mientras que en *Macaca fascicularis*, no se han descrito fibras marcadas con somatostatina-28 (1-12) en esos núcleos.

Finalmente, se ha descrito la presencia de somatostatina-14 y somatostatina-28 en el sistema nervioso central de *Macaca fascicularis* (Beal et al., 1987). En este trabajo, ambos neuropeptidos se observaron en zonas del tronco del encéfalo como por ejemplo, en la sustancia negra, sustancia gris periacueductal, locus coeruleus y en la oliva inferior. Estos datos concuerdan con nuestras observaciones en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*, ya que hemos observado somas y/o fibras con somatostatina-28 (1-12) en la sustancia gris periacueductal, sustancia negra y en la oliva inferior. Sin embargo, en nuestro estudio no hemos observado somas o fibras con somatostatina-28 (1-12) en el locus coeruleus.

En resumen, podemos afirmar que la somatostatina-28 (1-12) es uno de los neuropéptidos que presenta una mayor distribución en el tronco del encéfalo de primates. Si comparamos nuestros resultados con estudios previos (Coveñas et al., 2008), podemos afirmar que existe una gran similitud en cuanto a la distribución de las fibras con somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo de los primates no humanos hasta ahora estudiados. Sin embargo, la distribución de los somas inmunorreactivos que contienen este neuropéptido es menor en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus* que en *Macaca fascicularis*.

Hombre

Se ha descrito la distribución de estructuras inmunorreactivas con somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo de niños y adultos (Bouras et al., 1987; Chigr et al, 1989). En estos estudios se ha encontrado, por ejemplo, una densidad alta de somas con somatostatina-28 (1-12) en la sustancia gris periacueductal y en el núcleo interpeduncular. Estos resultados indican que si bien la distribución de somatostatina-28 (1-12) es amplia tanto en el hombre como en *Saimiri sciureus*, la distribución de los somas con somatostatina-28 (1-12) en el hombre es mucho más amplia que la observada en *Saimiri sciureus*. Sin embargo, podemos destacar que existen somas marcados con este neuropéptido en los mismos núcleos en las dos especies, como es el caso de la sustancia gris periacueductal. La distribución de fibras con somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* y en el hombre, en general, es muy amplia. En las dos especies se han observado fibras con somatostatina-28 (1-12) en el núcleo interpeduncular, sustancia negra, formación reticular mesencefálica y bulbar,

sustancia gris periacueductal, colículos superior e inferior, alrededor del braquium conjunctivum, núcleo espinal del trigémino, oliva inferior, núcleo vestibular medial y en el núcleo del tracto solitario. Finalmente, nuestros resultados sobre la distribución de somas y/o fibras con somatostatina-28 (1-12) en el colículo superior e inferior, la sustancia gris periacueductal, sustancia negra, oliva inferior, núcleo del tracto solitario y en el núcleo espinal del trigémino, confirman los datos obtenidos por Reubi et al. (1986) sobre la presencia de receptores de somatostatina en las mencionadas zonas del tronco del encéfalo humano.

En resumen, la distribución de somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* y del hombre es amplia; mientras que la distribución de los somas con somatostatina-28 (1-12) es menos amplia en *Saimiri sciureus* que en el hombre.

5.5 Péptido Relacionado con el Gen de la Calcitonina (CGRP)

Mono

Ardvidsson et al. (1991) han demostrado la presencia de somas y/o fibras marcados con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, a nivel de la protuberancia en el tronco del encéfalo del mono *Macaca fascicularis*. Estos resultados muestran una alta densidad de somas y fibras inmunomarcadas para este neuropeptido en zonas como por ejemplo, el núcleo del rafe, área dorsal de la oliva inferior, núcleo hipogloso, núcleo ambiguo y en el núcleo abducens. Estos datos contrastan con nuestras observaciones, ya que en los niveles protuberanciales del tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*, no observamos somas marcados; mientras que sí encontramos fibras

inmunorreactivas en el núcleo hipogloso. En nuestro estudio hemos encontrado una alta densidad de fibras y un amplia distribución de las mismas marcadas para el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en los niveles mesencéfalicos y del bulbo raquídeo. Si bien la distribución es amplia en ambas especies, por lo menos a nivel protuberancial, la densidad de las estructuras inmunomarcadas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina es mucho mayor en *Macaca fascicularis* que en *Saimiri sciureus*. Cabe resaltar que en ninguna de las dos especies estudiadas se inyectó colchicina, por lo que el marcaje de los somas en el caso de *Macaca fascicularis*, posiblemente se deba a diferencias propias de la especie, aunque el aspecto metodológico (anticuerpo primario utilizado...) no debe descartarse para explicar dichas diferencias.

Alpaca

Nuestro grupo ha publicado recientemente un trabajo sobre la distribución de somas y fibras con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en una especie de camélidos: la alpaca (de Souza et al., 2008). En este trabajo se ha descrito una amplia distribución de somas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina. Por ejemplo, se observaron en el colículo superior, sustancia gris periacueductal, alrededor del braquium conjuntivum, núcleo motor espinal del trigémino, formación reticular de la protuberancia, formación reticular bulbar y en el núcleo hipogloso. Estos datos contrastan con nuestros resultados, ya que no observamos somas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus*. Es importante resaltar que la metodología utilizada en ambos trabajos fue la

misma y que en ninguno de los dos casos se inyectó colchicina, por lo que la diferencia observada en el marcaje de los somas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, puede ser debido a diferencias intrínsecas de las especies. Además, de Souza et al. (2008) han demostrado la presencia de una amplia distribución de fibras marcadas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el tronco del encéfalo de la alpaca: braquium conjuntivum, división parvocelular de el núcleo espinal del trigémino, formación reticular de la protuberancia, núcleo cuneato, núcleo del tracto solitario, formación reticular pontina, área postrema, tracto espinal del trigémino... La distribución de las fibras con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el tronco del encéfalo de la alpaca es más amplia que la observada por nosotros en *Saimiri sciureus*. Sin embargo, en ambas especies se han observado estructuras inmunorreactivas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el colículo superior e inferior, formación reticular mesencefalica, protuberancial y bulbar y en el núcleo espinal del trigémino. También, podemos observar algunas diferencias, ya que en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* encontramos fibras con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el núcleo vestibular medial, mientras que en la alpaca no se observaron fibras marcadas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en este núcleo.

En resumen, si comparamos nuestros resultados con los obtenidos por de Souza et al. (2008) en cuanto a la distribución del el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el tronco del encéfalo de alpaca, podemos afirmar que la distribución de los somas y de las fibras con este neuropeptido es mucho más amplia en la alpaca que en el mono *Saimiri sciureus*.

Hombre

Estudios previos en el tronco del encéfalo humano (Unger y Lange, 1991) han demostrado la presencia de fibras marcadas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en la sustancia gris periacueductal, sustancia negra, locus coeruleus, fascículo longitudinal medial y en el núcleo del tracto solitario. Además, se han descrito en este mismo estudio somas con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el núcleo hipoglosa y en el núcleo ambiguo del tronco del encéfalo humano. Estos resultados contrastan con los observados en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* en donde no encontramos somas con este neuropéptido en ninguno de los niveles (anteriores y posteriores) estudiados. Es importante resaltar que en ninguna de las dos especies se inyectó colchicina.

Así, si comparamos la distribución de las fibras con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* y del hombre (Unger y Lange, 1991), podemos afirmar que esta es muy similar

6. Acciones fisiológicas de los neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre y del mono (*Saimiri sciureus*)

La amplia distribución de los neuropéptidos estudiados en el tronco del encéfalo en las dos especies (hombre y *Saimiri sciureus*) sugiere que pueden estar involucrados

en diferentes acciones fisiológicas, actuando como neurotransmisores y/o neuromoduladores.

En el tronco del encéfalo del hombre hemos encontrado estructuras inmunorreactivas con α -neo-endorfina en núcleos como por ejemplo, la sustancia gris periacueductal, núcleo espinal del trigémino, núcleo del tracto solitario y el núcleo motor dorsal del vago, lo que sugiere que este neuropeptido puede estar involucrado en mecanismos respiratorios, nociceptivos, analgésicos y/o cardiovasculares. Además, se ha descrito que la presencia de α -neo-endorfina en la sustancia negra lo que indica que dicho neuropeptido podría estar implicado en mecanismos motores (Coveñas et al., 2008). Igualmente, en el tronco del encéfalo humano, la presencia de neuroquinina B en núcleos como por ejemplo, núcleo dorsal del vago, sustancia gris periacueductal, núcleo espinal del trigémino y los colículos superior e inferior, indica que esta neuroquinina puede estar involucrada en mecanismos cardiovasculares, visuales, auditivos, respiratorios, analgésicos y/o nociceptivos. Además, puede existir una interacción funcional entre las neuroquininas y neuropeptidos como la somatostatina, ya que en casi todos los núcleos de la porción dorsal del tronco del encéfalo del hombre se han observado fibras marcadas con neuroquininas y somatostatina (Coveñas et al., 2003a).

En *Saimiri sciureus* hemos observado fibras marcadas con leucina encefalina y metionina encefalina alrededor del braquium conjunctivum, lo que indica que estos neuropeptidos pueden estar implicados en mecanismos respiratorios. Además, la presencia de estos dos neuropeptidos en la sustancia negra, indica pueden estar involucrados en mecanismos motores. En este sentido se ha sugerido que determinados

trastornos motores, como ocurre en la enfermedad de Huntington, pueden estar asociados a un descenso significativo de las encefalinas en la sustancia negra (Inagaki y Parent, 1985). La presencia de hormona adrenocorticotropa (18-39) en núcleos del tronco del encéfalo del mono *Saimiri sciureus* como por ejemplo, la sustancia gris periacueductal, núcleo interpeduncular y colículos superior e inferior, indica que dicho neuropéptido puede estar involucrado en mecanismos cardiovasculares, motores, auditivos, visuales, nociceptivos, analgésicos y respiratorios.

Lo mismo ocurre con la sustancia P, ya que podría intervenir en procesos respiratorios, nociceptivos y visuales al estar presente en la sustancia gris periacueductal, núcleo espinal del trigémino, alrededor del braquium conjuntivum y en el colículo superior. De hecho, se ha descrito que la apnea y el síndrome de hipoventilación central congénita pueden estar asociados a un aumento en la expresión de sustancia P en el núcleo parabraqial (alrededor del barquium conjuntivum) (Saito et al., 2001). Además, se ha descrito que la presencia de sustancia P en el núcleo motor dorsal del vago y en el núcleo del tracto solitario puede estar implicada, respectivamente, en la modulación de las funciones viscerales y en la la hipoxia (Coveñas et al., 2003b).

Hemos encontrado una amplia distribución de somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*. Así, observamos somas y fibras con este neuropéptido en la sustancia negra, núcleo interpeduncular, núcleo central superior, colículos superior e inferior, formación reticular (mesencéfalo, protuberancia y bulbo), núcleo espinal del trigémino, núcleo vestibular medial, núcleo motor dorsal del vago,

núcleo hipogloso, núcleo del tracto solitario, núcleo cuneato y núcleo prepositus. Esta distribución indica que la somatostatina-28 (1-12) está involucrada en una amplia gama de acciones fisiológicas (respiración, respuesta cardiovascular, respuesta gustativa, visión, procesos auditivos...) (Cheng et al., 1996; Chigr et al., 1989; Zaphiropoulos et al., 1991; Cheng-Shu et al., 2003; Coveñas et al., 2003b).

Se ha demostrado la participación del péptido relacionado con el gen de la calcitonina en funciones adrenales y autonómicas, tras aplicar microinyecciones en el núcleo espinal del trigémico del gato (Coveñas et al., 2003b). Así, cuando se administró el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en dicho núcleo, aumentó la liberación de adrenalina por la glándula adrenal, la presión sanguínea y la frecuencia cardíaca (Coveñas et al., 2000a). Finalmente, la presencia de fibras con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en el núcleo espinal del trigémino, alrededor del braquium conjuntivum y en el núcleo motor dorsal del vago de *Saimiri sciureus*, indica que el neuropeptido puede estar involucrado en mecanismos respiratorios, cardiovasculares y/o nociceptivos.

En el futuro, las posibles acciones fisiológicas indicadas previamente en las que pueden intervenir los neuropeptidos presentes en el tronco del encéfalo del hombre y del mono *Saimiri sciureus*, deberán ser estudiadas en profundidad

7. Futuro de las investigaciones sobre los neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre y de *Saimiri sciureus*

Desde nuestro punto de vista, para conocer mejor la distribución y las acciones fisiológicas de los neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre y de *Saimiri sciureus*, se tendrían que desarrollar en el futuro las siguientes líneas de investigación:

- 1.1 Estudiar, en el mono, la distribución de los somas peptidérgicos con los neuropéptidos estudiados en este trabajo, tras utilizar colchicina intraventricularmente
- 1.2 Estudiar mediante técnicas inmunocitoquímica la distribución de otros neuropéptidos en el tronco del encéfalo del hombre y de *Saimiri sciureus* (galanina, hormona estimulante de los melanocitos, angiotensina II, factor liberador de la corticotropina, péptido liberador de gastrina...)
- 1.3 Estudiar mediante técnicas inmunocitoquímica (doble o triple marcaje) la coexistencia de neuropéptidos
- 1.4 Demostrar vías peptidérgicas mediante la combinación de trazadores y técnica de inmunocitoquímica
- 1.5 Realizar microinyecciones de neuropéptidos con el fin de establecer su acción fisiológica, así como sus implicaciones funcionales con otros neuropéptidos
- 1.6 Cuantificar la concentración de neuropéptidos mediante la técnica de radioinmunoensayo

Esperamos que los resultados descritos en este trabajo sobre los neuropeptidos estudiados, pueda ser punto de apoyo para otros investigadores (biólogos, morfólogos, bioquímicos, fisiólogos...) y sirva para ampliar los conocimientos que se tienen actualmente sobre la distribución y funciones de los neuropeptidos en el tronco del encéfalo del hombre y del mono. La meta que nos proponemos en los próximos años es ir desarrollando las líneas de investigación planteadas anteriormente, con el fin de conocer más a fondo la distribución y las acciones de los neuropeptidos en el tronco del encéfalo de primates humanos y no humanos.

VII.CONCLUSIONES

1. Hemos descrito por primera vez la distribución de α -neo-endorfina y de neuroquinina B en el tronco del encéfalo del hombre
2. En el hombre, la distribución de la neuroquinina B es muy reducida. Dicha distribución es bastante menos amplia que la descrita, en estudios previos, para la neuroquinina A
3. Hemos observado somas inmunorreactivos con α -neo-endorfina o neuroquinina B en el tronco del encéfalo del hombre. Los primeros en la sustancia gris periacueductal y entre el tracto corticospinal lateral; los segundos en el colículo superior
4. La distribución de las fibras con α -neo-endorfina en el tronco del encéfalo del hombre es mucho más amplia que la que presenta las fibras con neuroquinina B
5. En el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*, hemos descrito por primera vez la distribución de estructuras inmunorreactivas con leucina-encefalina, hormona adrenocorticotrópica (18-39), metionina-encefalina, sustancia P, somatostatina-28 (1-12) o con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina
6. La distribución de las fibras inmunorreactivas con los neuropeptidos estudiados en el tronco del encéfalo *Saimiri sciureus* es amplia

7. Hemos observado somas con leucina-encefalina, metionina-encefalina o con somatostatina-28 (1-12) en el tronco del encéfalo de *Saimiri sciureus*. Los primeros en el colículo superior; los segundos entre el lemnisco medial y el núcleo anular; y los terceros en la sustancia gris periacueductal y en línea media de la protuberancia.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Abe J, Okamura H, Makino S, Yanaihara N, Ibata Y (1987) Immunocytochemical distribution of [Met]enkephalin-Arg-Gly-Leu immunoreactivity in the rat diencephalon. *Brain Res Bull* 19:735-741.
- Abrams GM, Nilaver G, Hoffman D, Zimmerman EA, Ferin M, Krieger DT, Liotta AS (1980). Immunocytochemical distribution of corticotrophin (ACTH) in monkey brain. *Neurology*. 30:1106-1110
- Aguilar L, Malmierca MS, Coveñas R, López-Poveda EA, Tramú G, Merchán M (2004) Immunocytochemical distribution of methionine-enkephalin-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸ (Met-8) in the auditory system of the rat. *Hear. Res.*, 187: 111-121.
- Aguirre JA, Coveñas R, Croix D, Alonso JR, Narváez JA, Tramú G, González-Barón S (1989a) Immunocytochemical study of angiotensin II fibres and cell bodies in the brain stem respiratory areas of the cat, *Brain Res*. 489: 311-317
- Aguirre JA, Coveñas R, Dawid-Milner S, Alonso JR, García-Herdugo G, González-Barón S (1989b) Neuropeptide Y-like immunoreactivity in the brain stem respiratory nuclei of the cat. *Brain Res Bull*. 23: 201-207
- Akil H, Watson SJ, Young E, Lewis ME, Khachaturian H, Walker JM (1984) Endogenous opioids: Biology and functions. *Ann Rev Neurosci* 7: 223-255
- Alpert LC, Brawer JR, Patel YC, Reichlin S (1976) Somatostatin-ergic neurons in anterior hypothalamus: immunohistochemical localization. *Endocrinology* 98: 255-258
- Amaral DG, Avendaño C, Benoit R (1989) Distribution of somatostatin-like immunoreactivity in the monkey amygdala. *J Comp Neurol* 284: 294-313

- Arvidsson U, Ulfhake B, Cullheim S, Terenius L, Hökfelt T (1991) Calcitonin gene-related in the monkey spinal cord and medulla oblongata. *Brain Res.* 558: 330-334.
- Arvidsson, U., Cullheim, S., Ulfhake, B., Ramírez, V., Dagerlind, A., Luppi, PH., Kitahama, K, Jouvet, M, Terenius, L, Aman, K, Hökfelt, T. (1992) Distribution of enkephalin and its relation to serotonin in cat and monkey spinal cord and brain stem. *Synapse*, 11: 85-104.
- Baker KG, halliday GM, Hornung JP, Geffen LB, Cotton RGH (1991) Distribution , morphology and number of monoamine-synthesizing and substance P-containing neurons in the human dorsal raphe nucleus. *Neuroscience* 42: 757-775
- Barden N, Merand Y, Roleau D, Moore S, Dockray GJ, Dupont A (1981) Regional distribution of somatostatin and cholecistokinin-like immunoreactivities in rat and bovine brain. *Peptides* 2: 299-302
- Basbaum AI, Fields WL (1984) Endogenous pain control system: Brainstem spinal pathway and endorphin circuitry. *Ann Rev Neurosci* 7: 309-338
- Beal MF, Benoit R, Mazurek MF, Bird ED, Martín JB (1986) Somatostatin-28 (1-12)-like immunoreactivity is reduced in Alzheimer's disease cerebral cortex. *Brain Res* 368: 380-383
- Beal MF, Mazurek MF, Martín JB (1987) A comparison of somatostatin and neuropeptide Y distribution in monkey brain. *Brain Res* 405: 213-219
- Belda M, Coveñas R, Narváez JA, Aguirre JA, Tramú G (2000) Distribution of luteinizing hormone-releasing hormone in the upper brainstem and

diencephalons of the cat: an immunocytochemical study. *Brain Res Bull* 51:281-291

- Belda, M, Coveñas, R, Narváez, JA, Aguirre, JA, Tramú, G. (2003) An immunocytochemical mapping of methionine-enkephalin-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸ in the cat brainstem. *Anat. Embryol.*, 206: 399-408.
- Bennett-Clarke C, Joseph SA (1986) Immunocytochemical localization of somatostatin in human brain. *Peptides* 7: 877-884
- Bennett-Clarke C, Romagnano MA, Joseph SA (1980) Distribution of somatostatin in the rat brain: telencephalon and diencephalon. *Brain Research* 188: 473-486
- Bhargava HN, Matwyshyn G, Hanissian S, Teiwani GA (1988) Opioid peptides in pituitary gland, brain regions and peripheral tissues of spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto normotensive rat. *Brain Res* 440: 333-340
- Bissette G, Myers B (1992) Somatostatin in Alzheimer's disease and depression. *Life Sci* 51: 1389-1410
- Bouras C, Taban CH, Constantinidis J (1984) Mapping of enkephalins in human brain. An immunohistofluorescence study on brain from patients with senile and presenile dementia. *Neuroscience* 12: 179-190
- Bouras C, Vallet PG, Dobrinov H, de St-Hilaire S, Constantinidis J (1986) Substance P neuronal cell bodies in the human brain: complete mapping by immunohistofluorescence. *Neurosci Lett.* 69: 31-36
- Bouras, C., Magistretti, PJ, Morrison, JH, Constantinidis, J. (1987), An immunohistochemical study of pro-somatostatin-derived peptides in the human brain, *Neuroscience*, 3: 781-800.

- Brownstein M, Arimura A, Sato H, Schally AV, Kizer JS (1975) The regional distribution of somatostatin in the rat brain. *Endocrinology* 96: 1456-1461
- Bugnon C, Fellmann D, Bloch B (1977) Immunocytochemical study of the ontogenesis of the hypothalamic somatostatin-containing neurons in the human fetus. *Cell Tissue Res* 183: 319-328
- Burgos C, Aguirre JA, Alonso JR, Coveñas R. (1988) Immunocytochemical study of substance P-like fibres and cell bodies in the cat diencephalons. *J. Hirnforsch.*, 29: 651-657.
- Burgunder JM (1994) Ontogeny of somatostatin gene expression in rat forebrain. *Brain Res Dev Brain Res* 78: 109-122
- Burnweit C, Forssman WG (1979) Somatostatinergic nerves in the cervical spinal cord of the monkey. *Cell Tissue Res* 200: 83-90
- Charara, A., Parent, A. (1998) Chemoarchitecture of the primate dorsal raphe nucleus. *J. Chem. Neuroanat.*, 2: 111-127.
- Cheng, PY, Liu-Chen, LY, Chen, C, Pickel, VM (1996) Immunolabeling of Mu opioid receptors in the rat nucleus of the solitary tract: extrasynaptic plasmalemmal localization and association with Leu⁵-enkephalin. *J. Comp. Neurol.*, 371: 522-536.
- Cheng-Shu, L, Davis, BJ, Smith, DV. (2003) Opioid modulation of taste responses in the nucleus of the solitary tract. *Brain Res.* 965: 21-34.
- Chigr F, Najimi M, Leduque P, Chayvialle JA, Bouvier R, Kopp N (1991) anatomical distribution of substance P-immunoreactive neurons in human brainstem during the first postnatal year. *Brain Res Bull* 26: 515-523

- Chigr, F, Najimi, M, Leduque, P., Charnay, Y, Jordan, D, Chayvialle, JA, Tohyama, M, Kopp, N (1989) Anatomical distribution of somatostatin immunoreactivity in the infant brainstem. *Neuroscience*, 29: 615-628.
- Cone RI, Weber E, Barchas JD, Goldstein A (1983) Regional distribution of dynorphin and neo-endorphin peptides in rat brain, spinal cord, and pituitary. *J Neurosci* 3: 2146-2152
- Conrath M, Coveñas R, Romo R, Cheramy A, Bourgoin S, Hamon M, (1986), Distribution of met-enkephalin immunoreactive fibers in the thalamus of the cat. *Neurosci Lett.*, 65: 299-303.
- Conti F, Sternini C (1989) Calcitonin gene-related peptide (CGRP)- positive neurons and fiber in the cat periaqueductal grey matter. *Somatosens motor res* 6: 497-511
- Cooper P, Fernstrom MH, Rorstad OP, Leeman SE, Martin JB (1981) The regional distribution of somatostatin, substance P and neurotensin in human brain. *Brain Res* 218: 219-232
- Cooper, P.E., Fernstrom, M.H., Rorstad, O.P., Leeman, S.E. y Martin, J.B. (1981) The regional distribution of somatostatin, substance P and neurotensin in human brain. *Brain Res.*, 218: 219-232.
- Coveñas R, Martin F, Belda M, Smith V, Salinas P, Rivada E, Díaz-Cabiale Z, Narváez JA, Marcos P, Tramú G, González-Barón S (2003a) Mapping of neurokinin-like immunoreactivity in the human brainstem. *BMC Neurosci* 4;4:3.

- Coveñas R, Belda M, Marcos P, de León M, Narváez J.A, Aguirre J.A, Tramú G, González-Barón S (2003b) Neuropeptides in the cat brainstem. *Current Topics in Peptide & Protein Research*, 5: 41-61.
- Coveñas R, Aguirre J.A, de León M, Alonso J.R, Narváez JA, Arévalo R, González-Barón S, (1990a) Immunocytochemical study of neuropeptide Y-like cell bodies and fibers in the brainstem of the cat. *Brain Res. Bull.*, 25: 675-683.
- Coveñas R, Aguirre JA, Alonso J.R, Dios M, Lara J, Aijón J, (1990b) Distribution of neuropeptide Y-like immunoreactive fibers in the cat thalamus. *Peptides*, 11: 45-50.
- Coveñas R, Fuxe K, Cintra A, Aguirre J.A, Goldstein M, Ganten D, (1990c) Evidence for the existence of angiotensin II-like immunoreactivity in subpopulations of tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons in the A₁ and C₁ area of the ventral medulla of the male rat. *Neurosci Lett.*, 114: 160-166.
- Coveñas R, Alonso JR, Tramú G (1989) Immunocytochemical study of angiotensin II cell bodies in the rat thalamus. *Brain Res.* 481: 185-189
- Coveñas R, Burgos C, Conrath M, (1988) Immunocytochemical study of met-enkephalin-like cell bodies in the cat hypothalamus. *Nuerosci Res.*, 5: 353-360.
- Coveñas R, de León M, Chadi G, Cintra A, Gustafsson JA, Narváez JA, Fuxe, K (1994) Adrenalectomy increases the number of substance P and somatostatin immunoreactive nerve cells in the rat lumbar dorsal root ganglia. *Brain Res.*, 640: 352-356.
- Coveñas R, de León M, Marcos P., Belda M., Aguirre JA., Narváez JA, González-Barón S. (2000a) Neuropeptidos en el núcleo espinal del trigémino. *Rev.Soc. Esp. Dolor.* 7: 444-452

- Coveñas R, de León M, Narváez JA, Aguirre JA, Tramú G (2000b) Mapping of alpha-melanocyte-stimulating hormone-like immunoreactivity in the cat brainstem. *Arch Ital Biol* 138:185-194.
- Coveñas R, de León M, Narváez JA, Aguirre JA, Tramú G, González-Barón S (1997) ACTH/CLIP immunoreactivity in the cat brain stem. *Peptides* 18:965-970.
- Coveñas R, de León M, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1996a) An immunocytochemical mapping of ACTH/CLIP in the cat diencephalon. *J Chem Neuroanat* 11:191-197.
- Coveñas R, de León M, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1996b) An immunocytochemical mapping of beta-endorphin (1-27) in the cat diencephalon. (*Hoyle*, 1996) 30:261-271.
- Coveñas R, De León M, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1996c) Mapping of alpha-melanocyte-stimulating hormone-like immunoreactivity in the cat diencephalon. *Peptides* 17:845-852.
- Coveñas R, Duque, E, Mangas, A, Marcos, P, Narváez, JA (2008) Neuropeptides in the monkey (*Macaca fascicularis*) brainstem. En: **Brain Molecules: from Vitamins to Molecules for Axonal Guidance**. Mangas, A., Coveñas, R., Geffard, M. (eds.), Transworld Research Network, Trivandrum, pp. 131-156
- Coveñas R, Martín F, Salinas P, Rivada E, Smith V, Aguilar LA, Díaz-Cabiale Z, Narváez JA, Tramú G (2004) An immunocytochemical mapping of methionine-enkephalin-Arg(6)-Gly(7)-Leu(8) in the human brainstem. *Neuroscience* 128:843-859.

- Coveñas R, Romo R, Cheramy A, Cesselin F, Conrath M, (1986) Immunocytochemical study of enkephalin-like cell bodies in the thalamus of the cat. *Brain Res.*, 377: 355-361.
- Coveñas R., de León M., Cintra A, Bjelke B, Gustafsson JA, Fuxe K (1993) Coexistence of c-fos and glucocorticoid receptor immunoreactivities in the CRF immunoreactive neurons of the paraventricular hypothalamic nucleus of the rat after acute immobilization stress. *Neurosci Lett.*, 149: 149-152.
- Coveñas, R, de León, M, Belda, M, Marcos, P., Narváez, JA, Aguirre, JA, Tramú, G, González-Barón, S (2002) Neuropeptides in the cat diencephalon: II. Hypothalamus. *Eur. J. Anat.*, 6: 47-57.
- Coveñas, R, De León, M, Narváez, JA, Aguirre, JA., Tramú, G, González-Barón, S (1999) Anatomical distribution of beta-endorphin (1-27) in the cat brainstem: an immunocytochemical study. *Anat Embryol* 199:161-167.
- Coveñas, R, de León, M., Belda, M., Marcos, P., Narváez, J.A., Aguirre, J.A., Tramú, G., González-Barón, S. (2001) Neuropeptides in the cat diencephalon: I. Thalamus. *Eur. J. Anat.*, 5: 159-169.
- Coveñas, R, Mangas, A, Narváez, JA (2007a) Introduction to neuropeptides. En: **Focus on Neuropeptide Research**. Coveñas, R., Mangas, A., Narváez, J.A. (eds.), Transworld Research Network, Trivandrum, pp. 103-113
- Coveñas, R, Mangas, A, Narváez, JA (2007b) Pathophysiology of neuropeptides. En: **Focus on Neuropeptide Research**. Coveñas, R., Mangas, A., Narváez, J.A. (eds.), Transworld Research Network, Trivandrum, pp. 241-272

- Coveñas, R., de León, M., Narváez, J.A., Aguirre, J.A., Tramú, G., González-Barón, S. (1997) ACTH/CLIP immunoreactivity in the cat brain stem. *Peptides*, 18: 965-970.
- Cuadrado I, Coveñas R, Aguilar LA, Aguirre JA, Rioja J, Narváez JA (2005) Mapping of neurokinin B in the cat brainstem. *Anat. Embryol.*, 210: 133-143.
- Davies P, Terry RD (1981) Cortical somatostatin-like immunoreactivity in cases of Alzheimer's disease and senile dementia of the Alzheimer type. *Neurobiol Aging* 2: 9-14
- De la Calle S, Saper CB (2000) Calcitonin gen-related peptide-like immunoreactivity marks putative visceral sensory pathways in human brain. *Neuroscience* 100: 115-130
- de León M, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1991a) Neurotensin-like immunoreactivity in the diencephalon of the adult male cat. *Peptides* 12: 257-264.
- de León M, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1991b) Distribution of neurotensin-like immunoreactive cell bodies and fibers in the brainstem of the adult male cat. *Peptides* 12: 1201-1209.
- de León M, Coveñas R, Chadi G, Narváez JA, Fuxe K, Cintra A (1994) Subpopulations of primary sensory neurons show coexistence of neuropéptidos and glucocorticoid receptors in the rat spinal and trigeminal ganglia. *Brain Res.* 636: 338-342.
- de León M, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1991c) Somatostatin-28 (1-12)-like immunoreactivity in the cat diencephalon. *Neuropeptides* 19:107-117

- de León M, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1992a) Distribution of somatostatin-28 (1-12) in the cat brainstem: an
- de León M, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1992b) Distribution of cholecystokinin octapeptide in the cat brainstem: an immunocytochemical study. Arch. Ital. Biol., 130: 1-10.
- de Souza E, Coveñas R, Yi P, Aguilar LA, Lerma L, Andrade R, Mangas A, Díaz-Cabiales Z, Narváez JA (2008) Mapping of CGRP in the alpaca (*Lama pacos*) brainstem. J Chem Neuroanat 35:346-55
- de Souza, E, Yi, P, Aguilar, LA, Coveñas R, Lerma, L, Andrade, R, Mangas, A, Narváez, JA (2007) Mapping of leucine-enkephalin in the alpaca (*Lama pacos*) brainstem. En: **Focus on Neuropeptide Research**. Coveñas, R., Mangas, A., Narváez, J.A.(eds.), Transworld Research Network, Trivandrum, pp. 103-113,
- del Fiacco M, Dessi ML, Levanti LC (1984) Topographical localization of substance P in the human post-mortem brainstem. An immunohistochemical study in the newborn and adult tissue. Neuroscience 12: 591-611
- del Fiacco M, Dessi, Atzori MG, Levanti MC (1983) Substance P in the human brainstem. Preliminary results of its immunohistochemical localization. Brain Res 264: 142-147.
- del Fiacco, M, Levanti MC, Dessi ML, Zucca, G (1987) The human hippocampal formation and parahippocampal gyrus: Localization of substance P-like immunoreactivity in newborn and adult post-mortem tissue. Neuroscience 21: 141-150
- Dèsy L, Pelletier G (1977) Immunohistochemical localization of somatostatin in the human hypothalamus. Cell Tissue Res 184: 491-497

- Díaz-Cabiale Z, Parrado C, Coveñas R, Rodríguez M, Fuxe K, Narváez JA (2008) Galanin in the central nervous system. En: Brain Molecules: from Vitamin to Molecules for Axonal Guidance. Mangas A, Coveñas R, Geffard M. (eds.), Transworld Research Network, Trivandrum, pp. 157-180.
- Dierickx K, Vandesande F (1979) Immunocytochemical localization of somatostatin-containing neurons in the rat hypothalamus. *Cell tissue Res* 201: 349-359
- DiFliglia M, Aroni N (1984) Immunoreactive leu-enkephalin in the monkey hypothalamus including observations on its ultrastructural localization in the paraventricular nucleus. *J. Comp. Neurol.* 225: 313-326
- DiFliglia M, Aronin N, Leeman S (1981) Immunoreactive substance P in the substantia nigra of the monkey: light and electron microscopic localization. *Brain Res.* 233: 381-388.
- Douglas H, Kitchen I (1992) Mechanisms involved in the cardiovascular responses to opioid products of proenkephalin in the anaesthetised rat. *Gen Pharmacol* 23:269-277.
- Eckernäs SA, Aquilonius SM, Lundqvist G, Roos BE (1978) Regional distribution of cholinergic and monoaminergic markers, somatostatin and substance P in the human brain. *Acta Neurol Scand* 57: 225-226
- Elde RP, Parsons JA (1975) Immunocytochemical localization of somatostatin in the cell bodies of the rat hypothalamus. *Am J Anat* 144: 541-548
- Emmers R, Aker K (1963) A Stereotaxic Atlas of the Brain of the Squirrel Monkey (*Saimiri sciureus*). The University of Wisconsin Press. pp. 98

- Epelbaum J, Dournaud P, Fodor M, Viollet C (1994) The neurobiology of somatostatin. *Crit Rev Neurobiol* 8: 25-44
- Faith RE, Liang HJ, Murgo AJ, Plontikoff NP (1984) Neuroimmunomodulation with enkephalins: enhancement of human natural killer (NK) cell activity *in vitro*. *Clin immunopathol* 31: 412-418
- Fallon JH and Leslie FM (1986) Distribution of dynorphin, enkephalin peptides in the rat brain. *J Comp Neurol* 249: 293-336
- Finley JC, Maderdrut JL, Roger LJ, Petrusz P (1981) The immunocytochemical localization of somatostatin-containing neurons in the rat central nervous system. *Neuroscience* 6: 2173-2192
- Fodor M, Görcs TJ, Palkovits M (1992) Immunohistochemical study on the distribution of neuropeptides within the pontine tegmentum. Particularly the parabrachial nuclei and the locus coeruleus of the human brain. *Neuroscience* 46: 891-908
- Gai WP, Blumbergs PC, Geffen LB, Blessing, WW (1993) Galanin-containing fibers innervate substance P-containing neurons in the pedunculopontine tegmental nucleus in humans. *Brain Res* 618: 135-141
- Gerancioti TD, Carpenter LL, Owens MJ, Beaker DG, Eklator NN, Horn PS, Strawn JR, Sanacora G, Kinhead B, Price LH, Nemeroff CB (2006) Elevated cerebrospinal fluid substance P concentration in posttraumatic stress disorder and major depression. *Am J Psychiatry* 163: 637-643
- Goodman RH, Aron DC, Roos BA (1983) Rat pre-somatostatin: structure and processing by microsomal membranes. *J Biol Chem* 258: 5570-5573

- Graybiel, AM, Elde, RP (1983) Somatostatin-like immunoreactivity characterizes neurons of the nucleus reticularis thalami in the cat and monkey. *J Neurosci* 3: 1308-1321.
- Haber, S, Elde, R (1982) The distribution of enkephalin-immunoreactive neuronal cell bodies in the monkey brain: preliminary observation. *Neurosci. Lett.*, 32: 247-252.
- Haber, S. y Elde, R. (1982) The distribution of enkephalin-immunoreactive neuronal cell bodies in the monkey brain: preliminary observation. *Neurosci Lett.* 32: 247-252.
- Haegi K, Laurence M, Cohen E, Finburg R (1990) Neurohormones regulate T cell function. *J. Exp. Med* 171: 1625-1633
- Halliday GM, Gai WP, Blessing WW, Geffen LB (1990) Substance P containing neurons in the pontomesencephalic tegmentum of the human brain. *Neuroscience* 39: 81-96
- Hendry SH, Jones EG, Emson PC (1984) Morphology, distribution, and synaptic relations of somatostatin- and neuropeptide Y-immunoreactive neurons in rat and monkey neocortex. *J Neurosci* 4: 2497-2517
- Holt AG, Newman SW (2004) Distribution of methionine and leucine-enkephalin neurons within the social behavior circuitry of the male Syrian hamster brain. *Brain Res.* 1030: 28-48
- Hoyle CHV (1996) *Neuropeptides: Essential Data*. Chichester: John Wiley & Sons.

- Hughes J (1984) Reflections on opioid peptides. In: Hughes J, Collier HOJ, Rance MJ, Tiers MB, eds. Opioids: Past, present and future. London: Taylor & Francis: 9-19
- Huttenlocher PR, Amemiya IM (1978) Effects of adrenocortical steroids and of adrenocorticotrophic hormone on (Na⁺-K⁺)-ATPase in immature cerebral cortex. *Pediatr Res* 12: 104-107
- Ibuki T, Okamura H, Miyazaki M, Yanaihara N, Zimmerman EA, Ibata Y (1989) Comparative distribution of three opioid systems in the lower brainstem of the monkey (*Macaca fuscata*). *J Comp Neurol* 279:445-456.
immunocytochemical study. *Neuropeptides* 21:1-11
- Inagaki S, Parent A (1984) Distribution of substance P and enkephalin-like immunoreactivity in the substantia nigra of rat, cat and monkey. *Brain Res Bull* 13: 319-329
- Inagaki, S, Parent, A. (1985) Distribution of enkephalin-immunoreactive neurons in the forebrain and the upper brainstem of the Squirrel Monkey. *Brain Res.*, 359: 267-280.
- Jordan D, Kermadi I, Rambaud C, Gilly R, Bouvier R, Koop N (1995) Regional distribution of substance P binding site in the brainstem of the human newborn. *Brain Res* 695: 117-124.
- Joseph SA (1980). Immunoreactive adrenocorticotropin in rat brain: a neuroanatomical study using antiserum generated against synthetic ACTH (1-39). *Am J Anat.* 158:533-548

- Joseph SA, Michael GJ (1988) Efferent ACTH-ir opiocortin projections from nucleus tractus solitarius: A hypothalamic deafferentation study. *Peptides* 9:193-201.
- Joseph SA, Pilcher WH, Bennett-Clarke C (1983) Immunocytochemical localization of ACTH perikarya in nucleus tractus solitarius: Evidence for a second opiocortin neuronal system. *Neurosci Lett.* 38: 221-225.
- Kangawa K, Minamino N, Fukuda A, Matsuo H (1983) Neuromedin K: a novel mammalian tachykinin identified in porcine spinal cord. *Biochem Biophys Res Commun* 114:533-540.
- Kataoka, K., Mizuno, N., Frohman L.A. (1979) Regional distribution of immunoreactive neurotensin in monkey brain. *Brain Res. Bull.*, 4: 57-60.
- Khachaturian H, Watson SJ, Lewis ME, Coy D, Goldstein A, Akil H (1982) Dynorphin immunocytochemistry in the rat central nervous system. *Peptides* 3: 941-954
- Khachaturian, H., Lewis, M.E., Haber S.N., Akil, H., Watson, S.J. (1984) Proopiomelanocortin peptide immunocytochemistry in rhesus monkey brain. *Brain Res. Bull.*, 13: 785-800.
- Khachaturian, H., Lewis, M.E., Haber, S.N., Houghten, R.A., Akil, H., Watson, S.J. (1985a) Prodynorphin peptide immunocytochemistry in rhesus monkey brain. *Peptides*, 6: 155-166.
- Khachaturian, H., Lewis, M.E., Tsou, K., Watson, S.J. (1985b) Beta-endorphin, alpha-MSH, ACTH and related peptides. En: *Handbook of chemical neuroanatomy*, vol. 4, Björklund, A. y Hökfelt, T. (Eds.), Elsevier, Amsterdam, pp. 216-272.

- Kitahama K, Sacai K, Jouvét M (1984) Mise en évidence de la projection directe des neurones immunoreactifs à l'ACTH sur le complexe du locus coeruleus chez le chat. C R Acad Sc Paris 298:163-167
- Kitahama K, Sallanon M, Buda C, Janin M, Dubois MP, Jouvét M (1986) ACTH-immunoreactive neurons and their projections in the cat forebrain. Peptides 7: 801-807
- Kowalski J (1997) Effect of enkephalins and endorphins on cytotoxic activity of natural killer cell and macrophages/monocytes in mice. Eur J Pharmacol 326: 251-255
- Kowalski J, Bożena G, Krzysztof L, Zbigniew S.H (2002) Methionine-enkephalin and leucine-enkephalin increase interleukin-1 β release in mixed glia culture. Neuropeptides 36: 401-406
- Kowalski J, Makowiecka K, Belowski D, Herman ZS (2000) Augmenting effect of methionine-enkephalin on interleukin-6 production by cytokine-stimulated murine macrophages. Neuropeptide 34: 187-192
- Kresse A, Jacobowitz DM, Skofitsch G (1991) Distribution of Calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the central nervous system of the rat by immunocytochemistry (ICC) and *in situ* hybridisation histochemistry (ISHH). Regulatory Peptides 34: 101
- Léger L, Lema F, Chastrette N, Charnay Y, Cesplugio R, Mazie J, Jouvét M (1990) A monoclonal antibody directed against CLIP (ACTH 18-39). Anatomical distribution of immunoreactivity in the rat brain and hypophysis with quantification of the hypothalamic cell group. J Chem Neuroanat 3: 297-308

- Lesur A, Gaspar P, Alvarez C, Berger B (1989) Chemoanatomic compartments in the human bed nucleus of the stria terminalis. *Neuroscience* 32: 181-194
- Lewis, D.A., Campbell, M.J. y Morrison, J.H. (1986) An immunohistochemical characterization of somatostatin-28 and somatostatin-28₁₋₁₂ in monkey prefrontal cortex. *J. Comp. Neurol.*, 248: Li P, Zhuo M (2001) Substance P and neurokinin A mediate sensory synaptic transmission in young rat dorsal horn neurons. *Brain Res Bull* 55:521-531.
- Liotta AS, Krieger DT (1983) Pro-opiomelanocortin-related and other pituitary hormones in the central nervous system. En: Krieger DT, Brownstein MJ y Martin JB (eds.). *Brain Peptides*, New York: John Wiley & Sons, 613-660.
- Loh, Y.P., Gainer, H. (1983) Biosynthesis and processing of neuropeptides. En: *Brain peptides*, Krieger, D.T., Brownstein, M.J. y Martin J.B. (Eds.), John Wiley & Sons, New York, pp. 79-116.
- Lopez JS, Mata E, Garcia I, Al- Assir I, Garchitorena J (1997). Alteraciones de la motilidad ocular asociado a patologías del SNC. *Acta estrabológica*. Tomado de: www.oftalmo.com/estrabologia/rev-97/f01-2.htm
- Ma W, Chabot JG, Quirion R (2009) Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and receptors. *Encyclopedia of Neuroscience* Pp. 509-520
- Mai JK, Triepel J, Metz J (1987) Neurotensin in the human brain. *Neuroscience.*, 22(2):499-524.
- Maison, SF, Emeson RB, Adams, JC Luebke, AE, Liberman MCh (2003) Loss of α CGRP reduces sound evoked activity in the cochlear nerve. *J Neurophysiol* 90: 2941-2949

- Maley, B.E., Newton, B.W., Howes, K.A., Herman, L.M., Oloff, C.M., Smith, K.C., Elde, R.P. (1987) Immunohistochemical localization of substance P and enkephalin in the nucleus tractus solitari of the rhesus monkey, *Macaca malatta*. J. Comp. Neurol., 260: 483-490.
- Mangas, A., Coveñas, R., Narváez J.A. (2007) Functions of neuropeptides. En: **Focus on Neuropeptide Research**. Coveñas, R., Mangas, A., Narváez, J.A. (eds.), Transworld Research Network, Trivandrum, pp.189-217
- Marcos P, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1994c), Galanin-like immunoreactivity in the cat brainstem. Arch. Ital. Biol. 132: 179-189.
- Marcos P, Corio M, Coveñas R, Tramú G (1996) Neurotensin and tyrosine hydroxylase in the tuberoinfundibular system of the guinea pig hypothalamus with special emphasis to lactation status. Peptides, 17: 139-146.
- Marcos P, Corio M, Dubourg P, Coveñas R, Tramú G (1997) Double immunocytochemistry in pre-embedding electron microscopy for the detection of neurotensin and tyrosine hydroxylase in the guinea pig, using two primary antisera raised in the same species. Brain Res. Brain Res. Protocols, 2: 1-8.
- Marcos P, Coveñas R, De León M, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1993a) Neurokinin A-like immunoreactivity in the cat brainstem. Neuropeptides 25: 105-114.
- Marcos P, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1993b) Alpha-neo-endorphin-like immunoreactivity in the cat brain stem. Peptides 14:1263-269.

- Marcos P, Coveñas R, Narváez JA, Aguirre JA, Tramú G, González-Barón S (1998) Neuropeptides in the cat amygdala. *Brain Res Bull* 45:261-268.
- Marcos P, Coveñas R, Narváez JA, Díaz-Cabiale Z, Aguirre JA, Tramú G, González-Barón S (1999) Immunohistochemical mapping of enkephalins, NPY, CGRP, and GRP in the cat amygdala. *Peptides* 20:635-644.
- Marcos P, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1994a) Distribution of dynorphin A (1-17) in the cat brainstem: an immunocytochemical study. *Arch Ital Biol* 132: 73-84
- Marcos P, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1994b) Distribution of gastrin-releasing peptide/bombesin-like immunoreactive cell bodies and fibres in the brainstem of the cat. *Neuropeptides*, 26: 93-101.
- Marcos P, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1994c) Galanin-like Immunoreactivity in the cat brainstem. *Arch Ital Biol* 132: 179-189
- Martín F, Coveñas R, Narváez JA, Tramú G (2003) An immunocytochemical mapping of somatostatin in the cat auditory cortex. *Arch Ital Biol* 141: 157-170.
- Martin JH. (1998) *Neuroanatomía*. Segunda edición. Prentice Hall. Madrid. Pp 353-354.
- Maysinger D, Höllt V, Seizinger BR, Mehraein P, Pasi A, Herz A (1982) Parallel distribution of immunoreactive alpha-neo-endorphin and dynorphin in rat and human tissue. *Neuropeptides* 2: 211-225
- Mcwilliam PN, Maqbool A, Batten TFC (1989). Distribution of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity in the nucleus ambiguous of the cat. *J Comp Neurol* 282: 206-214

- Mileusnic D, Lee JM, Magnuson DJ, Hejna MJ, Krause JE, Lorens JB, Lorens SA. (1999) Neurokinin-3 receptor distribution in rat and human brain: an immunohistochemical study. *Neurosci* 89:1269-90
- Morley BJ, Spangler KM, Javel E (1985) The development of somatostatin immunoreactivity in the interpeduncular nucleus of the cat. *Brain Res* 352: 241-248
- Moussaoui SM, Le Prado N, Bonici B, Faucher DC, Cuine F, Laduron PM, Garret C (1992) Distribution of neurokinin B in rat spinal cord and peripheral tissues: Comparison with neurokinin A and substance P and effects on neonatal capsaicin treatment. *Neuroscience* 4:969-978.
- Muñoz M, Rosso M, Pérez A, Coveñas R, Rosso R, Zamarriego C, Soult JA, Montero I (2005) Antitumoural action of the neurokinin 1 receptor antagonist L-733,060 and mitogenic action of substance P on human retinoblastoma cell lines. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 46: 2567-2570.
- Murakami S, Okamura H, Yanaihara C, Yanaihara N, Ibata Y (1987) Immunocytochemical distribution of met-enkephalin-Arg6-Gly7-Leu8 in the rat lower brainstem. *J Comp Neurol* 261:193-208.
- Murphy R, Turner CA (1990) Isolation and microsequence analysis of guinea pig alpha-neo-endorphin. *Peptides* 11: 65-68
- Najimi M, Chigr F, Leduque P, Jordan D, Charnay Y, Chayvialle JA, Tohyama M, Kopp N (1989) immunohistochemical distribution of somatostatin in the infant hypothalamus. *Brain Res* 483: 205-220
- Nomura H, Shiosaka S, Inagaki S, Ishimoto I, Semba E, Sakanaka M, Takatsuki K, Matsuzaki T, Kubota Y, Saito H, Takase S, Kogure K, Tohiama M (1982)

Distribution of substance P- like immunoreactivity in the lower brainstem of the human fetus: an immunohistochemical study. *Brain Res* 252: 315-325

- Nomura H, Shiosaka S, Tohama M (1987) Distribution of substance P-like immunoreactive structures in the brainstem of the adult human brain: an immunocytochemical study. *Brain Res* 404: 365-370
- Okimura Y, Chiahara K, Abe H, Kita T, Kshio Y Sato M, Fujita T (1987) Calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity in the central nervous system and peripheral organs of rats. *Regulatory Peptides* 17: 327-337
- Palacios Jm, Rigo M, Chinaglia G, Probst A (1990) Reduced density of striatal somatostatin receptors in Huntington's chorea. *Brain Res* 522: 342-346
- Palkovits M, Brownstein MJ, Zamir N (1983) Immunoreactive dynorphin and alpha-neo-endorphin in rat hypothalamo-neurohypophyseal system. *Brain Res* 278:258-61.
- Palkovits M, Brownstein MJ (1985) Distribution of neuropeptides in the central nervous system using biochemical micromethods. In: Björklund A, Hökfelt T, eds. *Handbook of chemical neuroanatomy*. vol. 4. GABA and neuropeptides in the CNS, part I. Amsterdam; Elsevier: 1-71.
- Palkovits, M. (1988) Neuropeptides in the brain. En: *Frontiers in Neuroendocrinology*, vol. 10, Martini, L. y Ganong W.F. (Eds), Raven Press, New York, pp. 1-44.
- Palkovits, M. (1988) Neuropeptides in the brain. En: *Frontiers in Neuroendocrinology*, vol. 10, Martini, L. y Ganong W.F. (Eds), Raven Press, New York, pp. 1-44.

- Palkovits, M., Eskay, R.L. (1987) Distribution and possible origin of beta-endorphin and ACTH in discrete brainstem nuclei of rats. *Neuropeptides*, 9:123-137.
- Pasternak GW (1987) Opioid receptors. En: Meltzer Y (ed.). *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*, New York: Raven Press, 281-288
- Paxinos, G, Chai, SY, Christopoulos, G, Huang, XF. Toga, AW, Wang, HQ, Sexton, PM. (2004) In vitro autoradiographic localization of calcitonin and amylin binding sites in monkey brain. *J Chem Neuroanat* 27: 217-236
- Pego-Reigosa R, Coveñas R, Tramú G, Pesini P (2000) Distribution of met-enkephalin immunoreactivity in the diencephalon and the brainstem of the dog. *J Chem Neuroanat* 19:243-258.
- Pego-Reigosa R, Coveñas R, Tramú G, Pesini P (2001) Distribution of somatostatin-28 (1-12) immunoreactivity in the diencephalon and the brainstem of the dog. *Anat Embryol* 203:61-76.
- Pesini P, Pego-Reigosa R, Tramú G, Coveñas R (2001) Distribution of alpha-neoendorphin immunoreactivity in the diencephalon and the brainstem of the dog. *J Chem Neuroanat* 22:251-262.
- Pesini P, Pego-Reigosa R, Tramú G, Coveñas R (2004) Distribution of ACTH immunoreactivity in the diencephalon and the brainstem of the dog. *J Chem Neuroanat* 27:275-282.
- Pilcher WH, Joseph SA (1984) Co-localization of CRF-ir perikarya and ACTH-ir fibers in rat brain. *Brain Res.* 299:91-102

- Pittius, C.W., Seizinger, B.R., Pasi, A., Mehraein, P., Herz, A. (1984) Distribution and characterization of opioid peptides derived from proenkephalin A in human and rat central nervous system. *Brain Res.*, 304: 127-136.
- Rao JK, Hu H, Prasad C, Jayaraman A (1986) The distribution pattern of adrenocorticotropin-like immunoreactivity in the cat central nervous system. *Neurosci Lett.* 71: 48-52
- Reichlin S (1983) Somatostatin. In: Krieger DT, Browstein MJ, Martin JB (eds) *Brain Peptides*. Wiley, New York, pp 712-752
- Reubi JC, Maurer R (1985) Autoradiographic mapping of somatostatin receptors in the rat central nervous system and pituitary. *Neuroscience* 15: 1183-1193
- Reubi JC, Probst A, Cortes R, Palacios JM (1987) Distinct topographical localisation of two somatostatin receptor subpopulations in the human cortex. *Brain Res* 406: 391-396
- Reubi, JC., Cortés, R, Maurer, R y Probst, A (1986) Distribution of somatostatin receptor in the human brain: an autoradiographic study. *Neuroscience* 18: 329-346.
- Rikard-Bell GC, Törk I, Sullivan C, Scheibner T (1990) Distribution of substance P-like immunoreactive fibres and terminals in the medulla oblongata of the human infant. *Neuroscience* 34:133-148
- Rinne JO, Lönnberg P, Marjamäki P, Mölsä P, Säkö E, Paljärvi L (1993a) Brain methionine and leucine-enkephalin receptor in patients with dementia. *Neurosci Lett.* 161: 77-80
- Rinne JO, Lönnberg P, Marjamäki P (1993b) Human brain methionine and leucine-enkephalins and their receptors during ageing. *Brain Res* 624: 131-136

- Romagnano MA, Joseph SA (1983) Immunocytochemical localization of ACTH (1-39) in the brainstem of the rat. *Brain Res.* 276: 1-16
- Rubinow DR, Davis CL, Post RM (1995) Somatostatin in the central nervous system. In: Bloom FE, Kupfer DJ (eds) *Psychopharmacology. The fourth generation of progress.* Raven Press, New York: 553-562
- Saito Y, Ito M, Ozawa Y, Matsuishi T, Hamano K, Takashima S (2001) Reduced expression of neuropeptides can be related to respiratory disturbances in Rett syndrome. *Brain Develop., Suppl. 1:* S122-S126
- Saito, Y., Ito, M., Ozawa, Y., Matsuishi, T., Hamano, K., Takashima, S., (2001) Reduced expression of neuropeptides can be related to respiratory disturbances in Rett syndrome. *Brain Develop., Suppl. 1:* S122-S126
- Samsam M, Coveñas R, Csillik B, Ahangari R, Yajeya J, Riquelme R, Narváez JA, Tramú G (2001) Depletion of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide from the contralateral and ipsilateral caudal trigeminal nucleus following unilateral electrical stimulation of the trigeminal ganglion; a possible neurophysiological and neuroanatomical link to generalized head pain. *J Chem Neuroanat* 21:161-169.
- Samsam M, Coveñas R, Ahangari R, Yajeya J, Narváez JA, Tramú G (1999) Alterations in neurokinin A-, substance P- and calcitonin gene-related peptide immunoreactivities in the caudal trigeminal nucleus of the rat following electrical stimulation of the trigeminal ganglion. *Neurosci Lett.* 261: 179-182.
- Samsam M, Coveñas R, Ahangari R, Yajeya J, Narváez JA, Tramú G (2000) Simultaneous depletion of neurokinin A, substance P and calcitonin gene-related

peptide from the caudal trigeminal nucleus of the rat during electrical stimulation of the trigeminal ganglion. *Pain* 84:389-395.

- Sánchez L, Coveñas R, Díaz-Cabiale Z, Narváez JA (2007) Neuropeptides in the cat spinal cord. En: Focus on Neuropeptide Research. Coveñas, R., Mangas, A., Narváez, J.A. (eds.), Transworld Research Network, Trivandrum, pp. 27-56.
- Sánchez L, Coveñas R, Aguirre JA, Narváez JA, Gómez A, Tramú G (2005) Mapping of tachykinins in the cat spinal cord. *Arch. Ital. Biol.*, 143: 29-50.
- Saria A, Haring C, Humpel C, Skofitsch G, Krobath J (1990) Calcitonin gene-related peptide in the amygdaloid complex of the rat: Immunohistochemical and quantitative distribution, and drug effects on calcium-dependent, potassium-evoked in vitro release. *Schizophrenia Res* 3: 35
- Schindler M, Humphrey PP, Emson PC (1996) Somatostatin receptors in the central nervous system. *Prog Neurobiol* 50: 9-47
- Schmechel DE, Vickrey BG, Fitzpatrick D, Elde RP (1984) GABAergic neurons of mammalian cerebral cortex: widespread subclass defined by somatostatin content. *Neurosci Lett* 47 (3): 227-232
- Schwark HD, Petit MJ, Fuchs JL (1998) Distribution of substance P receptor binding in dorsal column nuclei of rat, cat, monkey and human. *Brain Res.* 786: 259-262.
- Shepherd G. (1988) *Neurobiology*. Second Edition. Oxford University press. New York. Pp. 164-176.
- Shimada O, Ishikawa H (1989) Somatostatin-containing neurons in the mouse brain: an immunohistochemical study and comparison with the rat brain. *Arch Histol Cytol* 52: 201-212

- Shiosaka S, Takatsuki K, Sakanaka M, Inagaki S, Takagi H, Senba E, Kawai Y, Iida H, Minagawa H, Hara Y, Matsuzaki T, Tohyama M (1982) Ontogeny of somatostatin-containing neuron system of the rat: immunohistochemical analysis. II. Forebrain and diencephalon. *J Comp Neurol* 204: 211-224
- Skofitsch G, Jacobowitz (1985a) Quantitative distribution of gen-related peptide in the rat central nervous system. *Peptide* 6: 1069-1073
- Skofitsch G, Jacobowitz (1985b) Autoradiographic distribution of ^{125}I calcitonin gene-related peptide binding site in the rat central nervous system. *Peptide* 6: 975-986
- Skofitsch G, Jacobowitz (1991) Calcitocin and calcitonin gen-related peptide receptor binding site in the rat central nervous system. *Regulatory Peptides* 34: 94
- Stahl SM. (1999) Substance P and the neurokinins: novel peptide neurotransmitters in psychopharmacology. *J Clin Psychiatry* 60:77-78.
- Taber-Pierce E, Lichenstein E, Feldman SC (1985) The somatostatin systems of the guinea-pig brainstem. *Neuroscience* 15: 215-235
- Tashiro T, Takahashi, O, Satoda T, Matsushima R, Uemura-Sumi M, Mizuno M (1991) Distribution of axons showing calcitonin gene-related peptide and/or substance P-like immunoreactivity in the sensory trigeminal nuclei of the cat. *Neurosci Res* 11: 119-133
- Timmers HJ, Swaab DF, Nes JA van de, Kremer HP (1996) Somatostatin 1-12 immunoreactivity is decreased in the hypothalamic lateral tuberal nucleus of Huntington's disease patients. *Brain Res* 728: 141-148

- Too HP, Maggio JE (1991) Immunocytochemical localization of neuromedin K (neurokinin B) in rat spinal ganglia and cord. *Peptides* 12:431-443.
- Unger JW, Lange W (1991) Immunohistochemical mapping of neurophins and calcitonin gene-related peptide in the human brainstem and cervical spinal cord. *J Chem Neuroanat* 4: 299-309
- Vázquez J, Coveñas R, Muñoz M, García JA, Victoria A (1998) Modifications in the distribution of met-enkephalin in the cat spinal cord after administration of clonidine. An immunocytochemical study. *Histol Histopathol.*, 13: 955-959.
- Velasco A, de León M, Coveñas R, Marcos P, Narváez JA, Tramú G, Aguirre JA, González-Barón S (1993) Distribution of neurokinin A in the cat diencephalon: an immunocytochemical study. *Brain Res. Bull.*, 31: 279-285.
- Vincent SR, Hökfelt T, Christensson I, Terenius L (1982) Dynorphin-immunoreactive neurons in the central nervous system of the rat. *Neurosci Lett.* 33: 185-190
- Wang LG, Rao ZR, Li HM, Li SJ (1993) Prenatal ontogeny of substance P-like immunoreactivity in the nucleus tractus solitarius and dorsal motor nucleus of the vagus nerve of the human fetus: an immunocytochemical study. *Brain Res* 605: 9-17
- Wang LG, Rao ZR, Li SJ (1992a) Prenatal ontogeny of substance P-like immunoreactivity in the trigeminal spinal caudal subnucleus of the human fetus – an immunocytochemical study. *Brain Res* 579: 157-160
- Wang LG, Rao ZR, Li SJ (1992b) Prenatal ontogeny of substance P-like immunoreactivity in the parabrachial nucleus of the human fetus – an immunocytochemical study. *Brain Res* 590: 316-320

- Weber E, Barchas JD (1983) Immunohistochemical distribution of dynorphin B in rat brain: Relation to dynorphin A and alpha-neo-endorphin systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:1125-1129
- Weber E, Roth KA, Barchas JD (1982) Immunohistochemical distribution of alpha-neo-endorphin/dynorphin neuronal systems in rat brain: evidence for colocalization. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 3062-3066
- Wynne B, Robertson D (1997) Somatostatin and substance P-like immunoreactivity in the auditory brainstem of the adult rat. *J Chem Neuroanat* 12: 259-266
- Zamir N, Palkovits M, Brownstein MJ (1983) Distribution of immunoreactive dynorphin in the central nervous system of the rat. *Brain Res* 280: 81-93
- Zaphiropoulos A., Charnay, Y., Vallet, P., Constantinidis, J., Bouras, C. (1991) Immunohistochemical distribution of corticotrophin-like intermediate lobe peptide (CLIP) immunoreactivity in the human brain. *Brain Res. Bull.*, 26: 99-111.
- Zhong F, Li XY, Yang SL (1995) Methionine-enkephalin augments interleukin-6 production and gene expression *Acta Pharmacol Sin* 16: 205-209