

ORIGINAL

Inducción del temblor mandibular por lesión electrolítica del estriado ventrolateral y por el tratamiento subcrónico con haloperidol en rata macho: un contraste electromiográfico



G. Herrera-Meza^{a,b}, J. Manzo^a, M.E. Hernández^a, M. Miquel^c y L.I. García^{a,*}

^a Centro de Investigaciones Cerebrales, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México

^b Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México

^c Departamento de Psicobiología, Universidad de Jaume I, Castellón, España

Recibido el 3 de octubre de 2013; aceptado el 13 de octubre de 2013

Accesible en línea el 11 de diciembre de 2013

PALABRAS CLAVE

Tremor mandibular;
Estriado ventrolateral;
Lesión electrolítica;
Haloperidol;
Actividad muscular;
Electromiografía

Resumen

Introducción: El temblor mandibular (TM) en la rata es inducido farmacológicamente por la manipulación dopaminérgica estriatal y por lesión del estriado ventrolateral (EVL). Este temblor tiene características neuroquímicas, anatómicas y electromiográficas similares al temblor que presentan los pacientes con parkinsonismo. Pero se desconocen las características electromiográficas de los temblores generados por la lesión electrolítica del EVL.

Método: En ese estudio, se describió electromiográficamente el temblor mandibular generado por la lesión electrolítica bilateral del EVL y se comparó con el inducido por el tratamiento subcrónico (i.p.) con haloperidol, neuroléptico de selectividad alta como antagonista dopamínérgico del receptor D2. A ratas con lesión en la región ventrolateral del estriado, con un tratamiento subcrónico de haloperidol, y a un grupo control que solo recibió el vehículo, se les registró la actividad electromiográfica del músculo temporal en condiciones basales y durante los TM.

Resultados: La distribución de frecuencias del TM entre los grupos varió, puesto que las ratas con la lesión en el EVL mostraron TM de mayor amplitud y frecuencia EMG que las ratas tratadas con el haloperidol. La amplitud en condiciones basales difirió en los distintos grupos de ratas.

Conclusiones: Se concluye que los TM asociados a la lesión electrolítica del EVL son de mayor amplitud y frecuencia que los generados por haloperidol, esto puede estar relacionado con el tipo de afectación estriatal.

© 2013 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: luisgarcia@uv.mx, garcial00@yahoo.com.mx (L.I. García).

KEYWORDS

Tremulous jaw movement; Ventrolateral striatum; Electrolytic lesion; Haloperidol; Muscle activity; Electromyography

Induction of mandibular tremor using electrolytic lesion of the ventrolateral striatum or using subchronic haloperidol therapy in male rats: An electromyographic comparison**Abstract**

Introduction: Tremulous jaw movement (TJMs) in rats can be induced pharmacologically by striatal dopaminergic manipulation or electrolytic lesion of ventrolateral striatum (VLS). This tremor has neurochemical, anatomical and electromyographic (EMG) characteristics similar to those of tremor in Parkinson patients. However, the EMG characteristics of tremors generated by electrolytic lesion to the VLS have not yet been studied.

Method: This study used electromyography to describe tremulous jaw movement generated by bilateral electrolytic lesion in the VLS and compare it to tremors induced using subchronic IP treatment with haloperidol, a dopaminergic D2 receptor antagonist. The experimental groups contained rats with a lesion in the ventrolateral striatum and rats on subchronic haloperidol treatment; the control group received only the vehicle. The EMG signal from the temporal muscle was recorded at baseline and during TJMs in all groups.

Results: TMJ frequencies were heterogeneous among the groups. Rats with VLS lesion showed higher amplitude and frequency values than the haloperidol-treated rats. Amplitudes at baseline also differed among the groups.

Conclusions: We conclude that TMJs associated with electrolytic lesion to the VLS show a higher frequency and amplitude than tremors induced by haloperidol. This may be related to the way striatum neurons are affected.

© 2013 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La generación de los temblores mandibulares (TM) en rata se han asociado a alteraciones en los mecanismos estriatales^{1,2}. La mayoría de los TM son inducidos por una alteración en la neurotransmisión dopaminérgica estriatal, ocasionada por antagonismo dopaminérgico³⁻⁵ o por el efecto de la depleción de dopamina en el estriado ventrolateral (EVL) con 6-hidroxidopamina (6-OHDA), ambas condiciones causan TMs.

La zona lateral del estriado se relaciona con la función motora y sensoriomotora, y concretamente la región ventrolateral está involucrada en el control motor oral y de extremidades^{8,9}, por lo que en la generación de los TM, está implicada específicamente la región ventrolateral del estriado⁷, un área que recibe proyecciones dopaminérgicas provenientes de la sustancia negra compacta^{10,11} y en la que convergen neurotransmisores y neuromoduladores como la Ach y DA¹².

Los TM se caracterizan porque ocurren en ráfagas fásicas de actividad repetitiva de movimientos de la mandíbula no dirigidas hacia ningún estímulo en particular¹³, con una distribución de frecuencia entre 3-7 Hz¹⁴. Así que, características neuroquímicas, anatómicas y EMG de los TM se homologan con los registros del temblor en pacientes parkinsonianos¹³⁻¹⁵, por lo que los TM asociados a la manipulación dopaminérgica en los mecanismos estriatales lo hacen un modelo funcional en rata para analizar ciertas alteraciones en los ganglios basales.

En este contexto, y con la evidencia de que el estriado ventrolateral es la región directamente relacionada con la generación de los TM, hipotetizamos que la lesión electrolítica en el EVL causa movimientos mandibulares electromiográficamente distintos de los derivados del

antagonismo dopaminérgico subcrónico de 14 días (i.p.) con haloperidol. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue describir electromiográficamente los TM generados por la lesión electrolítica bilateral del EVL y compararlos con los inducidos por el tratamiento subcrónico (i.p.) con haloperidol en la rata Wistar.

Materiales y método

Sujetos experimentales

A 22 ratas macho de 250 a 350 g de masa corporal, se les alojó individualmente en cajas de acrílico transparente de 44 × 34 × 20 cm, con una cama de serrín esterilizado de 5 cm (Harlan, México), en condiciones de ciclo invertido de luz-oscuridad de 12 × 12 h (la luz se encendió a las 20 h) alimentación *ad libitum*. Las manipulaciones experimentales se realizaron con estricto apego a la Norma Oficial Mexicana para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (NOM-062-ZOO-1999) y a la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH, Washington D.C: EE. UU.).

Grupos experimentales

Las ratas fueron asignadas aleatoriamente a 3 grupos: uno que recibió haloperidol (1,5 mg/kg; n = 8) durante 14 días por vía i.p., otro grupo administrado con solución salina (1,5 ml/kg, n = 8) por el mismo periodo y vía. La dosis y el esquema de tratamiento con haloperidol se realizó considerando lo descrito por Salamone et al.¹⁶ y Trevitt et al.¹⁷. El tercer grupo (n = 6) fue de animales con lesión electrolítica bilateral en el EVL.

Después de 14 días, todas las ratas tratadas con haloperidol (RBI Research Biochemicals International, Natick, MA 01760 EE. UU.) tenían los TM y el grupo con lesión presentó la misma respuesta a las 24 h, lo cual se videofilmó en una sesión de 10 min para cada grupo experimental previos al registro EMG. Después solo se seleccionaron aleatoriamente 2 ratas de cada grupo para medir por electromiografía el TM y contrastar la respuesta a la alteración farmacológica y electrolítica. Las ratas con lesión del EVL fueron tratadas sobre la base de meglumina de fluinixina como analgésico (2,5 mg/kg) y con enrofloxacina como antibiótico (5 mg/kg), además de rehidratación subcutánea sobre la base de solución de electrolitos (hardman 0,9%).

Lesión electrolítica del estriado ventrolateral

Las ratas fueron anestesiadas con una mezcla de ketamina (60 mg/kg, Bayer) y xilazina (8 mg/kg, Pisa). Durante el periodo de anestesia profunda, se realizó un trépano en el cráneo siguiendo las coordenadas estereotáxicas¹⁸: anteroposterior = 8,74 mm, anterior a lambda, lateral (L) = ± 4,4 mm y ventral (V) = 3,40 mm, desde la línea interaural. Mediante un estereotáxico (Stoelting, Co., EE. UU.), se descendió un microelectrodo unipolar de acero inoxidable de 250 μm de diámetro (Stoelting, Co., EE. UU.), a través del cual se hizo pasar corriente directa anodal de 2,5 mA durante 30 s con un estimulador GRASS modelo S48 (Astro-Med, Inc, EE. UU.), conectado a una unidad de corriente constante Grass modelo CCU1 (Astro-Med, Inc., EE. UU.).

Implante de electrodos para registro electromiográfico

A los 3 grupos de ratas se implantaron electrodos bipolares de alambre de plata (Grass EW10AG) en el músculo temporal derecho, 24 h previas a la electromiografía. Estos fueron de 254 μm de diámetro, con 3 mm de exposición en la punta y con una longitud aproximada de 3 cm. Los cables fueron dirigidos subcutáneamente a la parte rostral del cráneo y fijados con acrílico dental (MDC Dental).

Registro del temblor mandibular

Los registros de la actividad EMG se obtuvieron en el animal despierto. En los animales con lesión en el EVL se realizó 48 h después de la lesión. Para los grupos tratados con haloperidol o solución salina, el registro fue realizado el día 14 de tratamiento.

Los electrodos implantados fueron conectados a un amplificador Grass 15A54, 15LT (Astro-Med, Inc., EE. UU.) y simultáneamente a un monitor de audio Grass AM9 (Astro-Med, Inc., EE. UU.). La señal análoga amplificada se envió, mediante una interface, al sistema PolyVIEW PVA-16 (Polyview Adaptator System) para ser digitalizada y enviada posteriormente a una PC, en la que se computaron y analizaron las respuestas de la conducta de cada animal con el programa Grass PolyVIEW (Data Acquisition and Analysis System, 16 v 1.0).

Perfusión

Después del registro EMG, todos los animales recibieron una dosis de anestesia profunda (0,6 ml/kg) de pentobarbital sódico (Sedalpharma, México) y fueron perfundidos transcardiacamente para la extracción del cerebro y su

crioprotección en una serie ascendente de sacarosa (10, 20 y 30%) diluida en buffer de fosfato a 0,1 M. En un criostato (LEICA CM1850) se realizaron cortes coronales de un espesor 60 μm y a una temperatura de -24 °C para verificar el sitio de la lesión en el caso de los animales con esta.

Análisis estadísticos

Se graficaron la distribución de frecuencias de la amplitud y la frecuencia de la actividad EMG del músculo temporal en estado basal y durante el TM en las ratas y se obtuvieron los valores modales. Además, se realizaron modelos lineales generalizados con un diseño de factores fijos y anidados (jerárquico), como se indica en análisis con seudorepeticiones¹⁹:

$$y = G + R_{[G]} + P_{[R]} + \text{error}$$

donde y es la variable de respuesta (frecuencia y amplitud), G el grupo, R es la rata y Ps que son las seudorepeticiones de los trazos EMG. El mismo modelo se ajustó para analizar a la amplitud de la actividad basal en todos los grupos. Las variables de respuesta se ajustaron a una distribución de error tipo Poisson, con una liga logarítmica y todos los análisis se realizaron en el paquete estadístico JMP 6 (SAS Inc. Cary, NC EE. UU., 2005).

Resultados

Registros electromiográficos de la actividad basal

Los registros EMG de la actividad basal del músculo temporal en ratas control, tratadas con haloperidol y con lesión electrolítica del EVL, muestran diferentes patrones de respuesta como se indica en el trazo EMG de un segundo (fig. 1A). En los animales del grupo control, la amplitud fue entre 0,2 y 0,3 mV, pero en las ratas con haloperidol fue en las categorías de 0,3 a 0,5 mV y los sujetos con lesión del EVL tuvieron la actividad basal de mayor amplitud, que fue entre 0,4 a 1,3 mV (fig. 1B).

El valor modal de la amplitud en la actividad basal del músculo temporal para los 3 grupos de ratas fue variable; en los animales del grupo control se presentó a los 0,2 mV, para las ratas tratadas con haloperidol fue a los 0,4 mV y en los individuos con lesión ocurrió a los 0,5 mV (fig. 1).

Contraste electromiográfico de la actividad basal

La amplitud promedio de la actividad EMG basal fue diferente al contrastar entre los 3 grupos de ratas ($\chi^2 = 6.6$, $p < 0,03$) y los factores anidados del modelo no aportaron efecto ($p > 0,05$), puesto que la mayor amplitud se observó en el grupo con el EVL lesionado, a diferencia del registro en los animales tratados con haloperidol, y estos 2 grupos experimentales contrastaron con el grupo control, el cual tuvo una actividad menor a los 0,3 mV (fig. 2).

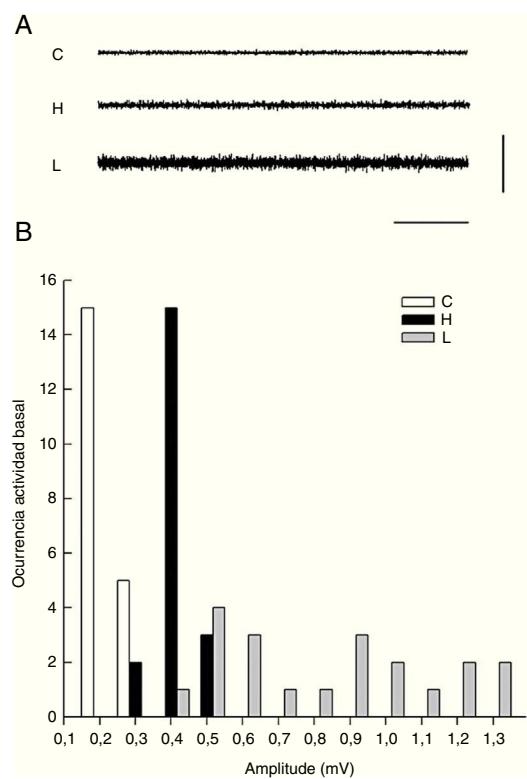


Figura 1 A) Trazos EMG de un segundo de la actividad basal del músculo temporal obtenidos en los grupos control (C), tratado con haloperidol (H) y con lesión electrolítica del EVL (L). Calibración horizontal: 200 ms. Calibración vertical: 1 mV. B) Amplitud de la actividad basal (mV) durante el registro EMG del músculo temporal en un grupo de ratas control (C), con haloperidol (H), con lesión electrolítica en el EVL (L).

Registros electromiográficos durante el temblor mandibular

La lesión en el EVL indujo los TM en la totalidad de los animales desde 24h después del daño, mientras que el tratamiento sistémico con 1,0 mg/kg de haloperidol indujo TM al día 14 de tratamiento en la totalidad de animales.

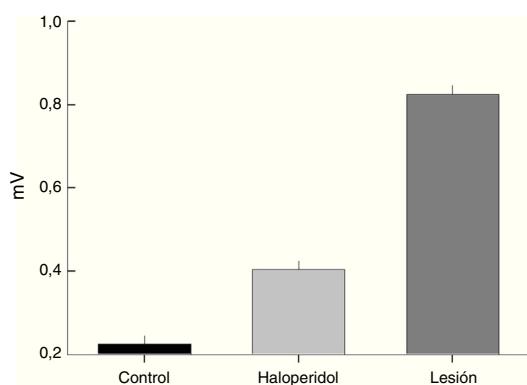


Figura 2 Valor promedio \pm DE de la amplitud (mV) de la actividad EMG del músculo temporal en estado basal en ratas control, con haloperidol y con lesión electrolítica en el EVL.

El patrón en la ocurrencia y su variación en los intervalos de frecuencia EMG del TM en ratas tratadas con haloperidol son menores que los causados en animales con lesión ventrolateral del estriado (fig. 3). El valor modal de los TM que mostraron los individuos a los que se les suministró el haloperidol (H) fue en la categoría de frecuencia de los 3 Hz y el registro del temblor solo ocurrió en el intervalo de 3 a 5 Hz (fig. 3 A y C). En cambio, en las ratas con lesión (L) en el EVL se observan siete categorías de ocurrencia de TM que están entre 3 y 9 Hz y el valor modal correspondió a la categoría de 4 Hz (fig. 3A).

Los registros de la actividad EMG durante el TM de las ratas tratadas con haloperidol mostraron una amplitud en las categorías de 2 a 4 mV, mientras que en las ratas con lesión en el EVL se presentaron de los 3 a 9 mV (fig. 3 B y C). Además, los valores modales de ocurrencia de TM fueron distintos; en los sujetos tratados con haloperidol la amplitud fue de 2 mV y en las ratas con lesión en el EVL la amplitud estuvo en la categoría de 3 y 4 mV (fig. 3B).

Contraste electromiográfico del temblor mandibular

Los valores promedio de la amplitud (mV) del temblor contrastó entre el registrado de las ratas con haloperidol y el grupo lesión del EVL ($\chi^2 = 10,3$, $p < 0,001$), los factores anidados del modelo no contribuyeron de efecto de contraste ($p > 0,05$), lo cual muestra que la mayor amplitud promedio fue en los sujetos con lesión EVL, a diferencia de los animales con haloperidol (fig. 4A).

El registro de la frecuencia (Hz) también mostró el mismo tipo de respuesta al contrastar entre los grupos de ratas ($\chi^2 = 31$, $p < 0,0001$); en este modelo el efecto de la rata anidada en el grupo aportó contraste ($\chi^2 = 7$, $p < 0,03$) y las seudorepeticiones no contrastaron cuando fueron anidadas en la rata ($\chi^2 = 1,7$, $p < 0,9$), por lo que el valor promedio más alto de la frecuencia también se registró en las ratas con lesión del EVL en comparación con el registrado en los animales con haloperidol (fig. 4B).

Discusión

La descripción EMG de los temblores mandibulares producidos por la lesión electrolítica bilateral del EVL y por el tratamiento subcrónico (i.p.) con haloperidol muestra una clara diferencia en el patrón de frecuencia y amplitud que cada uno presenta.

Los TM se generan al lesionar electrolíticamente la región ventrolateral del estriado. Este resultado es congruente con lo registrado en un estudio de depleción dopamínérgica con 6-hidroxidopamina que induce TM^{6,7}, atribuyendo a la zona ventrolateral del estriado el control motor oral y de extremidades^{8,9}.

El EVL es la subregión estriatal crítica en la que los mecanismos de receptores DA y ACh, y la adenosina interactúan para regular los TM^{5,12}. En este contexto es que los TM pueden ser inducidos por la manipulación de diversas condiciones farmacológicas, neuroquímicas y también por la lesión electrolítica en esta zona, tal indicamos en el presente estudio.

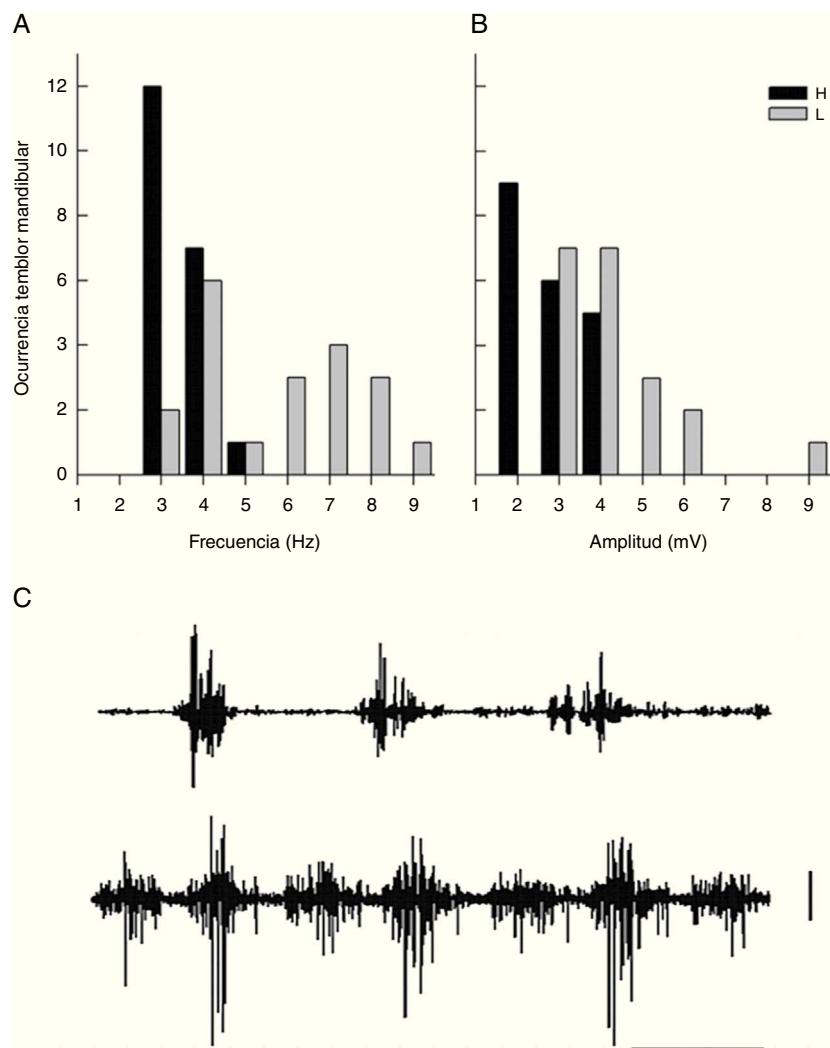


Figura 3 A) Frecuencia (Hz) de la actividad EMG del músculo temporal durante el temblor mandibular en ratas con haloperidol (H) y con lesión electrolítica del EVL (L). B) Amplitud (mV) de la actividad EMG del músculo temporal durante el temblor mandibular en ratas con haloperidol y con lesión electrolítica en el EVL. C) Trazos de actividad EMG de un segundo, obtenidos durante los movimientos mandibulares en un grupo de ratas tratadas con haloperidol (H) y con lesión del EVL (L). Calibración horizontal: 200 ms. Calibración vertical: 1 mV.

Los TM ocasionados por la lesión en el EVL son conductualmente similares a los descrito por Salamone et al.¹³, en animales con manipulación dopamínérgica. Ambas condiciones generan ráfagas periódicas de oscilaciones verticales de la mandíbula inferior sin que estén dirigidas hacia algún estímulo en particular, que se observan durante la fase de cierre de la mandíbula y la transición entre el cierre y la abertura mandibular, tal como lo describió Cousins et al.¹⁴ en ratas con temblor mandibular inducido por tacrina (i.p.) (inhibidor de la acetilcolinesterasa). Además, la activación EMG es consistente con lo reportado en otras condiciones de funcionamiento del músculo temporal, tales como el masticar alimento¹⁴ o castañear (datos no publicados Herrera-Meza).

Los TM inducidos por la lesión electrolítica en el EVL tienen características EMG específicas en frecuencia y amplitud. Los temblores se presentaron en un intervalo de frecuencia entre 3-9 Hz y con una amplitud de 3-9 mV; esta actividad mandibular es mayor en Hz y mVs en relación

con la observada en los temblores derivados del antagonismo dopamínérgico por administración subcrónica (IP) de haloperidol (3-5 Hz y 2-4 mV), de acuerdo con el registro EMG de cada grupo de ratas. El patrón de frecuencia de la actividad mandibular durante los TM por lesión es consistente con los registros EMG del TM descrito por Salamone et al.¹³ en el modelo de parkinsonismo en rata y del temblor en reposo (3 a 7 Hz) observado en el parkinsonismo en humanos^{20,21}, pero no con el intervalo de frecuencia característico de la discinesia tardía (1-2 Hz)²².

La descripción EMG muestra que la actividad basal de las neuronas motoras que inervan el músculo temporal se incrementa cuando se lesionó el EVL o en respuesta al tratamiento subcrónico con haloperidol. La amplitud en la actividad basal es mayor en animales con lesión electrolítica bilateral del EVL que en rata con un tratamiento subcrónico de haloperidol (I.P.). Por lo tanto, suponemos que las características EMG de los temblores y el incremento en la amplitud de

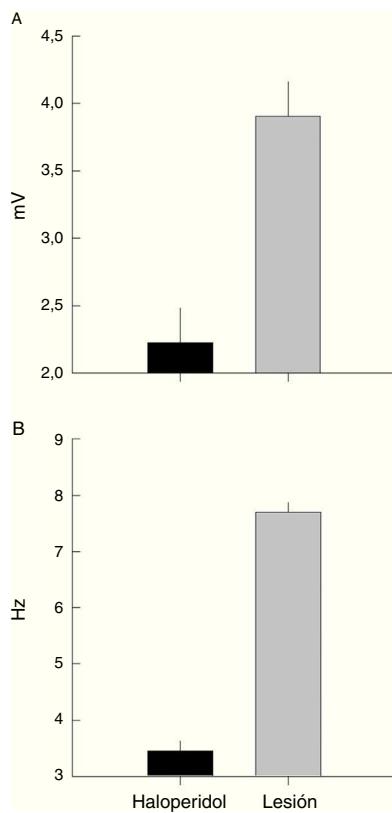


Figura 4 Valor promedio \pm DE de la amplitud (mV) y frecuencia (Hz) de la actividad EMG del músculo temporal durante el temblor mandibular en ratas con haloperidol y con lesión electrolítica en el EVL.

la actividad basal muscular están relacionados con el tipo de alteración ocasionada al estriado. Mientras que el antagonismo dopamínérgetico con haloperidol, neuroléptico de selectividad relativamente alta para el receptor D_2 y con efectos extrapiramidales, actúa sobre los ganglios basales, en particular el estriado y los núcleos relacionados afectando, probablemente, a las neuronas estriatales de la vía indirecta que expresa receptores D_2 . La lesión electrolítica destruye las neuronas estriatales de la región ventrolateral del estriado, principal entrada de la vía dopamínérgetica nigroestriada y en la que mecanismos de receptores DA, ACh y la adenosina interactúan^{5,12,13}, lo que posiblemente ocasiona un daño estriatal generalizado y con efecto en los núcleos relacionados.

La descripción EMG de los temblores mandibulares por lesión electrolítica del EVL muestra que estos tienen características específicas en frecuencia y amplitud, distinto de lo observado en ratas con tratamiento subcrónico de haloperidol. Pero los temblores inducidos por la lesión se corresponden con los temblores mandibulares producto de diversas condiciones neuroquímicas y farmacológicas como lo describe Salamone et al.¹³.

En síntesis, tanto la variación de la actividad basal observada en los grupos, así como el patrón de la activación rítmica del músculo temporal durante TM, inducidos por la lesión del EVL y por haloperidol, aportan evidencia sobre la relación que tienen mecanismos estriatales con las neuronas motoras que inervan al trigémino. A pesar de los pocos

individuos con los que se realizó la descripción, se determinaron los patrones de respuesta de los TM inducidos por la lesión en el EVL. Los temblores mandibulares por la lesión del EVL presentan características EMG específicas en frecuencia y amplitud en comparación con los observados en animales tratados con haloperidol; esta variabilidad puede ser atribuible al tipo de alteración estriatal.

Financiación

El estudio se realizó como parte del trabajo doctoral de GHM con número de becario CONACyT 377111 y tuvo financiamiento del PROMEP-Méjico PTC-195 y del Ministerio de Ciencia e Innovación [PSI2011- 29181].

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores agradecemos el apoyo a los Dres. J.F. Rodríguez Landa y A.J. Martínez-Chacón, por los comentarios a las versiones previas del manuscrito.

Bibliografía

1. Mayorga AJ, Carriero DL, Cousins MS, Gianutsos G, Salamone JD. Tremulous jaw movements produced by acute tacrine administration: Possible relation to parkinsonian side effects. *Pharmacol Biochem Behav*. 1997;56:273–9.
2. Salamone JD, Zigmond MJ, Stricker EM. Characterization of the impaired feeding behavior in rats given haloperidol or dopamine-depleting brain lesions. *Neuroscience*. 1990;39:17–24.
3. Salamone JD, Baskin PB. Vacuous jaw movements induced by acute reserpine and low-dose apomorphine: Possible model of parkinsonian tremor. *Pharmacol Biochem Behav*. 1996;53:179–83.
4. Ishiware K, Betz A, Weber S, Felsted J, Salamone JD. Validation of the tremulous jaw movement model for assessment of the motor effects of typical and atypical antipsychotics: Effects of pimozide (Orap) in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2005;80:351–62.
5. Collins-Praino LE, Paul NE, Rychalsky KL, Hinman JR, Chrobak JJ, Senatus PB, et al. Pharmacological and physiological characterization of the tremulous jaw movement model of parkinsonian tremor: Potential insights into the pathophysiology of tremor. *Front Syst Neurosci*. 2011;46:1–14.
6. Jicha G, Salamone J. Vacuous jaw movements and feeding deficits in rats with ventrolateral striatal dopamine depletion: Possible relation to parkinsonian symptoms. *J Neurosci*. 1991;11:3822–9.
7. Finn M, Jassen A, Baskin P, Salamone JD. Tremulous characteristic of vacuous jaw movements induced by pilocarpine and ventrolateral striatal dopamine depletions. *Pharmacol Biochem Behav*. 1997;57:243–9.
8. Kelley AE, Bakshi VP, Delfs JM, Lang CG. Cholinergic stimulation of the ventrolateral striatum elicits mouth movements in rats:

- Pharmacological and regional specificity. *Psychopharmacology (Berl)*. 1989;99:542–9.
- 9. Salamone JD, Johnson CJ, McCullough LD, Steinpreis RE. Lateral striatal cholinergic mechanisms involved in oral motor activities in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*. 1990;102:529–34.
 - 10. Berke JD, Hyman SE. Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron*. 2000;25:515–32.
 - 11. Hyman SE, Malenka RC. Addiction and the brain: The neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci*. 2001;10:695–703.
 - 12. Salamone JD, Ishiwari K, Betz AJ, Farrar AM, Mingote SM, Font L, et al. Dopamine/adenosine interactions related to locomotion and tremor in animal models: Possible relevance to parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord*. 2008;14:130–4.
 - 13. Salamone JD, Mayorga AJ, Trevitt JT, Cousins MS, Conlan A, Nawab A. Tremulous jaw movements in rats: a model of parkinsonian tremor. *Prog Neurobiol*. 1998;56:591–611.
 - 14. Cousins MS, Atherton E, Salamone JD. Behavioral and electromyographic characterization of the local frequency of tacrine-induced tremulous jaw movements. *Physiol Behav*. 1998;64:153–8.
 - 15. Cenci MA, Whishaw IQ, Schallert T. Animal models of neurological deficits: How relevant is the rat? *Nat Rev Neurosci*. 2002;3:574–9.
 - 16. Salamone JD, Cousins MS, Maio C, Champion M, Turski T, Kovach J. Different behavioral effects of haloperidol, clozapine and thioridazine in an instrumental lever pressing/feeding procedure. *Psychopharmacology (Berl)*. 1996;125:105–12.
 - 17. Trevitt JT, Atherton LA, Aberman J, Salamone JD. Effects of subchronic administration of clozapine, thioridazine and haloperidol on tests related to extrapyramidal motor function. *Psychopharmacology (Berl)*. 1998;137:61–6.
 - 18. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press. 1998;14:1–116.
 - 19. Lazic SE. The problema of pseudoreplication in neuroscientific studies: Is it affecting your analysis? *BMC Neuroscience*. 2010;11:5.
 - 20. Ropper AH, Brown RH. Tremors, myoclonus, focal dystonias, and tics. En: Adams and Victor's Principles of neurology. New York: McGraw-Hill; 2005. p. 80–99.
 - 21. Hunker CJ, Abbs JH. Uniform frequency of parkinsonian resting tremor in the lips, jaw, tongue and index finger. *Mov Dis*. 1990;5:71–7.
 - 22. Wirshing WC, Cummings JL, Dencker SJ, May PR. Electromechanical characteristics of tardive dyskinesia. *Schizophr Res*. 1989;2:40.