

03081

③ 20j
SERVICIO DE REGISTRO Y ARCHIVO

Electrofisiología de las Celulas Dopaminergicas de la Sustancia Negra Compacta en Animales Jovenes y Viejos: Efectos del Transplante de Medula Suprarenal.

T E S I S

Que para obtener el Grado de Doctor en Investigación Biomédica
Básica Area Neurociencias.

P r e s e n t a
Ma. Antonieta Lavín Plasencia

Director de Tesis
Dr. René Drucker - Colín

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

I.-INTRODUCCION	1
a).- Organización anatómica y funcional de los G.B.	2
b).- Organización modular del estriado	5
c).- Sustancia Negra	8
d).- Regulación presináptica	11
e).- Efecto inhibitorio de la dopamina	13
f).- Función de los G.B.	14
g).- Comentario	16
h).- Efecto del envejecimiento sobre la anatomía de los G.B.	17
i).- Efecto del envejecimiento sobre la bioquímica de los G.B.	19
j).- Comentario	25
k).- Efecto del envejecimiento sobre el estado de la membrana celular	28
l).- Comentario	30
m).- Electrofisiología	30
n).- Función de las células dopaminérgicas dentro de los G.B.	38
o).- Transplantes	40
p).- Comentario	45
II.- HIPOTESIS	46
III.- OBJETIVO	46
IV.- MATERIAL Y METODOS	
a).- Animales y procedimientos de anestesia	47
b).- Cirugía, materiales y equipo para registro electrofisiológico	47
c).- Sustancias	50
d).- Transplantes	50
e).- Protocolo de registro	51
f).- Verificación histológica	52
g).- Inmunohistoquímica	52
h).- Estadística	53
V.- RESULTADOS	
a).- Frecuencia de disparo	55
b).- Frecuencia de disparo en células fuera de la SNC	56
c).- Análisis del patrón de disparo	56
d).- Intervalo entre espigas	57
e).- Frecuencia de disparo promedio entre espigas sencillas	57
f).- Intervalo entre espigas sencillas	58
g).- Frecuencia de disparo entre células en ráfagas	58

h).-	Intervalo entre ráfagas	59
i).-	Duración del potencial de acción	59
j).-	Duración de las ráfagas	60
k).-	Distribución de frecuencias de disparo	60
l).-	Efecto del Quinpirole	61
m).-	Histología	

VI.- DISCUSION

VII.- BIBLIOGRAFIA

ABREVIATURAS

AHP	-	Posthiperpolarización
CM-pf	-	Núcleo centro mediano parafascicular
DA	-	Dopamina
EEG	-	Electroencefalograma
epsp	-	potencial postsináptico excitador
GABA	-	ácido gamma- amino-butírico
G.B.	-	Gánglios basales
G.P.	-	Globo pálido
GPM	-	Globo pálido medial
GPL	-	Globo pálido lateral
ipsp	-	potencial postsináptico inhibitor
SNC	-	Susbtancia negra compacta
SNR	-	Susbtancia negra reticulada
TH	-	Tiroxina hidroxilasa

La sustancia negra compacta (SNC) forma parte del sistema de los ganglios basales y está altamente relacionada con el control del movimiento y con la motivación para relizar movimientos. Uno de los problemas que se presentan con más frecuencia en sujetos de edad avanzada son las alteraciones en el control motor y la falta de motivación para relacionarse con el medio ambiente. Un deterioro en la velocidad y precisión de las tareas motoras son atribuidas a la edad avanzada. Se han establecido cambios morfológicos y neuroquímicos relacionados con el envejecimiento en varias áreas del cerebro, sin embargo la investigación se ha concentrado principalmente en los ganglios basales debido a que una variedad de desordenes neurológicos involucran cambios patológicos en este sistema. Los ganglios basales presentan al menos dos patologías asociadas con la edad: la córea de Huntington y la enfermedad de Parkinson. Síntomas menos severos de estas enfermedades incluyen el temblor senil y las córeas.

El objetivo de este trabajo fué determinar si algunas características electrofisiológicas de las células de la SNC se encuentran alteradas en animales viejos y si la colocación de transplantes fetales en el estriado de animales viejos pueden alterar la respuesta de las células de la SNC.

Para realizar este objetivo se utilizó el registro extracelular unitario en con el cual se caracterizó la respuesta de las neuronas de SNC en animales jóvenes y se comparó con los registros obtenidos en animales viejos y animales viejos con

transplantes.

Los resultados mostraron que en animales viejos existe una disminución en la frecuencia de disparo de las células de la SNC así como una disminución en el número de células que disparan en forma de ráfaga. La duración del potencial de acción y de las ráfagas no se modifica y el intervalo entre espigas aumenta. El trasplante mostró que puede provocar una recuperación parcial de la frecuencia de disparo de estas células actuando a través de él reestablecimiento de la inhibición perdida en el estriado, lo cual afecta a la vía de salida estriado-nigral. Sin embargo, las células de la SNC muestran signos de envejecimiento que el trasplante no puede modificar, como son alteraciones en las propiedades de membrana que se traducen entre otras alteraciones, en la capacidad de disparar en forma de ráfagas.

I.- INTRODUCCION.

Algunos de los hechos más importantes atribuidos a la edad avanzada son: un deterioro en la velocidad de ejecución de tareas motoras, una disminución en la precisión requerida para la ejecución de estas tareas y una disminución en la motivación para realizar tareas motoras. Se sabe que existen cambios neuroquímicos y morfológicos en varias áreas del cerebro, incluyendo la corteza motora (Scheibel et al., 1977; Allen et al., 1983), el cerebelo (Forgers et al., 1980) y los ganglios basales (Bugiani et al., 1978; Osterburgh et al., 1981; Severson et al., 1982) asociados a los deficits motores que se presentan en la vejez. Sin embargo la investigación en este campo se ha centrado principalmente en el estudio de los ganglios basales debido a que una variedad de desordenes neurológicos involucran cambios patológicos en estos núcleos. Las patologías de los ganglios basales representan al menos 2 de los principales desordenes relacionados con la edad: la enfermedad de Parkinson y las coreas. Síntomas menos severos de estas enfermedades, incluidos el temblor senil y la córea se desarrollan frecuentemente en personas ancianas saludables (Kramer et al., 1979).

La evidencia experimental actual indica que muchas de las anormalidades que ocurren durante los procesos de envejecimiento resultan de una capacidad reducida de los sistemas de neurotransmisores en el cerebro. Los deficits en los neurotransmisores son inferidos de una disminución en varios

parámetros neuroquímicos pre y postsinápticos en una variedad de regiones del cerebro (Pradhan, S. N. 1980; Strong, R. et al., 1980; Osterburgh et al., 1981; Severson et al., 1982; Allen, S.J. et al., 1983). Diversos estudios farmacológicos en el estriado de roedores muestran déficits neuroquímicos relacionados con algunas malfunciones motoras asociadas a la edad avanzada (Randall, P.K. 1980; Hicks, et al., 1980; Cubells, J. et al., 1981; Marshall et al., 1981). En estos trabajos se observa que los sistemas dopaminérgico y colinérgico están particularmente afectados.

En este trabajo se pretende determinar el impacto que tiene el proceso de envejecimiento sobre el funcionamiento de la sustancia negra cuya preservación parece ser fundamental para mantener la integridad motora de los mamíferos y primates incluyendo el hombre.

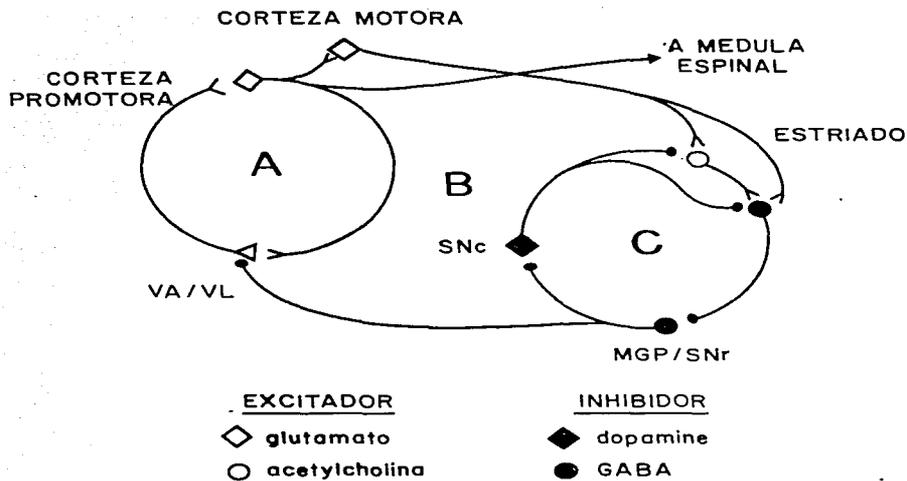
Sin embargo antes de describir la serie de experimentos realizados al respecto es necesario detallar la organización anatómica de este sistema así como establecer los aspectos más importantes de su fisiología y bioquímica.

ORGANIZACION ANATOMICA Y FUNCIONAL DE LOS GANGLIOS BASALES.

Los ganglios basales (G.B.) son un grupo de núcleos subcorticales ampliamente conectados, que abarcan el telencéfalo, el mesencéfalo y el cerebro medio. La siguiente descripción de los G.B. presenta sólo las principales conexiones ya que la interconectividad anatómica de las estructuras componentes es bastante compleja (Figura 1).

Figura 1.- Diagrama de las rutas de los ganglio basales.

Se muestra un diagrama de las vías de los G.B. mencionadas en este trabajo. A.. de tálamo a corteza una vía de retroalimentación positiva. B. de corteza a estriado una vía de retroalimentación positiva a través del globo pálido y el tálamo. C del estriado a la SNR. una vía de retroalimentación negativa. Tomado de Penney y Young, 1983.



La estructura aferente primaria de los G.B. es el estriado. En algunos mamíferos el estriado es una estructura pero en otros consiste en dos porciones: el caudado medial, y el putamén, lateral encontrándose dividido por las fibras de la cápsula interna. Las estructuras primarias de salida de los G.B. en los primates son el globo pálido medial (GPM) y la sustancia negra en su porción reticulada (SNR). Estos núcleos están separados por las fibras de los pedúnculos cerebrales pero contienen neuronas similares (Yelnik et al., 1984; Yelnik et al., 1987).

Como el caudado y el putamén el GPM y la SNR pueden ser considerados parte de un único sistema separado por un tracto de materia blanca. En muchos mamíferos la estructura homóloga del GPM es el núcleo entopeduncular que se encuentra embebido en las fibras del tracto cortico-fugal. El GPM y la SNR reciben proyecciones directas del estriado. Además existe una proyección indirecta del estriado al GPM y la SNR que empieza en el estriado y se continúa por el globo pálido lateral. Esto da lugar a una proyección masiva al núcleo subtalámico. Este núcleo proyecta a su vez al GPM y a la SNR y también al GP lateral en lo que se podría considerar una vía de retroalimentación negativa (Nauta et al., 1982). El estriado envía también proyecciones a la SNC y recibe una gran proyección de este núcleo. El neurotransmisor clásico de las vías estriatal, palidial y de la SNR es el GABA (Parent, A., 1986). El neurotransmisor del núcleo subtalámico no ha podido ser definido pero estudios recientes indican que es una sustancia excitadora y se plantea al glutamato, como un fuerte candidato. (Nakanishi et al., 1987; Smith et al., 1988). La sustancia neurotransmisor usada por la vía nigro estriatal es la

dopamina.(Fig. 1)

El estriado esta compuesto principalmente de neuronas de proyección (Grofová, 1979; Graybiel et al., 1979). Los estudios en ratas sugieren que la proyección estriatal a la SNR da lugar a una extensiva proyección colateral con axones que surgen de una sola neurona e inervan ambos segmentos del pálido y la SNR (Loopjuit et al., 1985). En el estriado también se encuentran interneuronas que pueden clasificarse utilizando técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas de acuerdo al neurotransmisor que utilizan. La subpoblación de interneuronas mejor caracterizada son las colinérgicas (DiFiglia, 1987) junto con el grupo que contiene somatostatina y neuropeptido Y (Vincent et al., 1983a, b).

El estriado recibe aferentes de toda la corteza (Kemp et al., 1970). El neurotransmisor que utilizan las aferentes corticales es probablemente el glutamato (Young et al., 1981). La única otra estructura de los G.E. que recibe entradas corticales directas es el núcleo subtalámico que recibe aferentes de la corteza motora y premotora (Hatrman-Von Monakow et al., 1978; Afsharpour et al., 1986; Rouzaire-Dubuois, 1987; Stanton et al., 1988). El estriado también recibe una entrada cortical indirecta a través de los núcleos intralaminares talámicos especialmente el núcleo centro-mediano parafascicular (CM-pf) (Parent et al., 1983; Beckstead, 1984; Royce et al., 1985). Como el núcleo CM-pf también recibe entradas del GPM y la SNR Francois y col. han propuesto la inclusión del complejo CM-pf en los ganglios basales (Francoise et al., 1989). Otras aferentes al estriado incluyen

las fibras dopaminérgicas de la SNC (Moore et al., 1971) y las aferentes serotoninérgicas del núcleo del raquí dorsal (Parent et al., 1983).

La salida de los G.B. es directa hacia varias regiones entre las cuales se encuentran los núcleos talámicos ventral anterior y ventral lateral y el medio-dorsal (Carpenter, 1981). Estos núcleos talámicos proyectan a la corteza prefrontal y las áreas de estos núcleos que reciben proyecciones del GPM y la SNR envían sus tractos al área motora (Schell et al., 1984; Jones, 1985). Las proyecciones talámo-corticales parecen ser excitadoras (Araki et al., 1976). Las colaterales de las neuronas que proyectan a los núcleos intralaminares también proyectan al CM-pf (Parent, 1986). (Fig. 1).

Existen proyecciones descendentes menos prominentes del GPM y la SNR al tegumento pedunculo pontino (Parent, 1986). Además el GPM proyecta a la habenula lateral y la SNR al colículo superior (Parent, 1986).

ORGANIZACION MODULAR DEL ESTRIADO

Es importante considerar que el estriado no es una estructura uniforme y que sus proyecciones eferentes no tienen un efecto uniforme en los sitios de proyección. En los últimos 15 años se ha descubierto que el estriado es una estructura heterogénea. En 1972 Olson et al., mostraron que las terminales dopaminérgicas estaban heterogéneamente distribuidas en ratas adultas. Subsecuentemente Mensah (1977) demostró que el neocestriado de la rata era citoarquitectónicamente heterogéneo. Comenzando con el trabajo de Graybiel y sus colegas se ha

demostrado que el estriado puede ser subdividido en dos grandes compartimentos: los estriosomas y la matriz (Graybiel et al., 1978). Estos compartimentos están definidos por la intensidad de la tinción histoquímica a la acetilcolinesterasa en gatos y primates (Graybiel et al., 1987) y por la distribución heterogénea de receptores opioides tipo Mu en roedores (Herkenham et al., 1981). Trabajos posteriores revelaron que los estriosomas y la matriz tienen diferentes conexiones. Los estriosomas reciben aferentes corticales de la corteza límbica y prefrontal sin embargo la matriz recibe aferentes de la corteza motora primaria y somatosensorial así como de las cortezas frontal, parietal y occipital (Ragsdale et al., 1981; Gerfen 1984a,b; Donohoue et al., 1986).

Las aferentes estriatales de la SNC también parecen estar diferentemente distribuidas en el estriado con diferentes grupos de neuronas que proyectan a los estriosomas y a la matriz (Gerfen 1987a,b,c).

Las salidas de los estriosomas van de regreso a la SNC mientras que los de la matriz van principalmente al GP y a la SNR (Graybiel et al., 1979; Gerfen et al., 1987). Estos dos compartimentos estriatales pueden estar unidos funcionalmente por interneuronas que contienen somatostatina y neuropéptido Y (Gerfen, 1984; Chesselet et al., 1986).

También algunas neuronas estriatales poseen dendritas que cruzan los bordes entre los estriosomas y la matriz (Bolam et al., 1988).

Además de esta compartimentalización, las neuronas de

proyección estriatales pueden diferenciarse por el neuropéptido que contienen y el núcleo blanco a donde proyectan. Las neuronas de la matriz contienen sustancia P y proyectan principalmente al GPM ó a la SNR, mientras que las que contienen encefalinas proyectan al GPL (Graybiel, 1986). Las neuronas de los estriosomes proyectan principalmente a la SNC y contienen sustancia P (Graybiel 1986; Chesselet, 1989). Un alto porcentaje de las neuronas peptidérgicas también contienen GABA (Penny et al., 1986). Estudios recientes con trazadores en gatos y primates han demostrado que las neuronas estriatales que proyectan a una zona blanca tienen colaterales hacia otros núcleos (Parent et al., 1984; Beckstead, 1986; Feger, 1986).

Al analizar la organización modular del estriado Smith y Bolam postulan que este núcleo consiste en una vía de las zonas corticales (Neocorteza, hipocampo y amígdala) a las neuronas espinosas medias las que también reciben entradas sinápticas de neuronas dopaminérgicas del cerebro medio. Estas neuronas espinosas medias proyectan al GP y a la SNR. De esta manera las aferentes dopaminérgicas pueden modular directamente el flujo de información de áreas corticales a través del estriado hacia el tallo cerebral y el tálamo.

CONEXIONES CELULARES EN EL ESTRIADO

Como se mencionó en el capítulo de la anatomía de los G.B. el estriado recibe gran cantidad de aferentes. Realizando estudios de la conectividad celular se encontró que las neuronas espinosas de tamaño medio del estriado reciben gran cantidad de entradas de diferentes aferentes y que estas entradas están

topograficamente acomodadas. Por ejemplo las aferentes externas del estriado como las vías glutamatérgicas de la corteza y las vías dopaminérgicas de la SNC terminan en las partes más distales del árbol dendrítico y específicamente en las espinas dendríticas mientras que las aferentes locales que vienen probablemente de interneuronas espinosas también, y que contienen GABA y sustancia P terminan en las regiones proximales de las dendritas y en el cuerpo celular. Las aferentes de las grandes interneuronas colinérgicas llegan a la parte media de las dendritas y al cuerpo celular.

SUSTANCIA NEGRA

Fué descrita por primera vez en 1867 por Vicq d' Azyr, y recibió este nombre por la pigmentación característica que muestra como resultado de una alta concentración de neuromelanina.

La sustancia negra ha sido dividida en dos partes: una parte dorsal con cuerpos bastante juntos llamada sustancia negra compacta (SNC) y una sección larga y ventral llamada sustancia negra reticulada (SNR) en la cual las neuronas estan dispersas.

La dopamina en contacto con el paraformaldéhidó cambia su estructura de tal forma que se vuelve fluorescente cuando le incide luz ultravioleta. Gracias a esta técnica se supo que la en la SNC se encuentran muchas neuronas que sintetizan dopamina (Dahlstrom y Fuxe, 1964; Fallon y Moore, 1978).

Las interacciones sinápticas que ocurren dentro de la sustancia negra son muy complejas. A la SNR llegan innumerables

dendritas de las células de la SNC que se ha demostrado contienen y liberan dopamina (Cuello e Iversen, 1978; Cheramy y col., 1981). Se ha visto que la dopamina liberada de las dendritas inhibe tónicamente la actividad de las neuronas vecinas a través de contactos dendrodendríticos (Cheramy y col., 1981). También se ha propuesto que la liberación de dopamina en la SNR puede modificar la liberación del neurotransmisor de las fibras aferentes a la SNR a través de contactos dendroaxónicos (Dray et al., 1976).

Circunscribiendonos a la sustancia negra compacta revisaremos brevemente sus principales aferencias y eferencias.

Existen datos controvertidos de la existencia de aferentes de la amígdala a la SNC. Se ha visto que cuando se inyecta de HRP en la SNC del mono aparecen algunas células debilmente marcadas en la amígdala (Bunney y Aghajanian, 1976; Krettek y Price, 1979). Se ha descrito una aferencia a la SNC proveniente de la región preóptica lateral del hipotálamo (Conrad y Pfaff, 1976; Nauta y Domesik, 1978) para la cual Nilaver y col. (1979) y Sofoniew (1980) sugieren a la oxcitocina y a la vasopresina como transmisores.

Se postula una aferencia del núcleo del rafé dorsal a la SNC, proponiendose a la serotonina como el transmisor (Ungersted, 1971). Existe una aferencia que procede de núcleo tegmental pedunculopontino (Graybiel, 1977), estudios del grupo de McGeer (1984) indican que al menos la parte ipsilateral de la vía puede utilizar acetilcolina como transmisor.

También se discute una conexión entre el globo pálido externo (Grofová 1975; Hattori et al., 1975; Bunney y Aghajanian,

1976) o el globo pálido ventral (Kim et al., 1976) y la SNC usando como transmisor al GABA y quizá la sustancia P.

Existen referencias a la SNC aún en discusión, como las provenientes de la corteza, que se postula utilizan como transmisores al ácido glutámico, al GABA o a ambos aminoácidos (Rinvik y Walberg, 1969).

Existe una conexión nigro-estriatal de fibras que contienen dopamina que se origina en la SNC en la región conocida como A 9. Estas fibras se encuentran junto con una vía minoritaria que proviene de áreas dopaminérgicas llamadas A 8 y A 10. Estas áreas proyectan fundamentalmente a la corteza (Ungersted, 1971). Estudios de marcaje retrógrado han demostrado que esta vía es fundamentalmente ipsilateral, pero con un componente menor que proyecta al lado contralateral (Pritzel et al., 1983; Conzolasione et al., 1985).

La SNC también tiene algunas proyecciones a ciertas regiones de la corteza, sugeridas primero por von Monakow en 1895 y redescubiertas por Llamas (1966) con el método de Nauta. Ahora se ha aclarado que estas proyecciones van a dar a áreas mesocorticales relacionadas con la corteza límbica (Fallon et al., 1978). También se ha reportado la existencia de fibras descendentes de la pars compacta. Una vía lateral y difusa baja a través del segmento lateral del mesencéfalo y el bulbo (Fallon et al., 1978). Otra vía más medial aparentemente termina en el núcleo del rafe dorsal (Roth et al., 1987).

Es importante señalar que Chiodo et al., en 1984 presentan evidencia bioquímica y electrofisiológica acerca de importantes

diferencias en la liberación de dopamina por el impulso nervioso entre las neuronas que inervan la corteza piriforme y el estriado y las que inervan la corteza prefrontal y cingulada. Estas últimas presentan liberación de dopamina modulada por autoreceptores somatodendríticos que regulan el impulso nervioso.

REGULACION PRESINAPTICA

En 1969 Katz y Miledi demostraron que la liberación de neurotransmisores puede ser provocada por la depolarización de la terminal nerviosa aún cuando el potencial de acción este bloqueado. Esta regulación es llevada a cabo por receptores llamados "autoreceptores presinápticos".

Inicialmente Farnebo y Hamberger (1971) mostraron que antagonistas dopaminérgicos incrementaban y agonistas dopaminérgicos disminuían la liberación provocada de dopamina marcada en rebanadas del estriado de ratas. Estos resultados sugerían un control presináptico de la liberación de dopamina por autoreceptores. En 1978 Starke confirmó que los neurolépticos aumentan la liberación de dopamina marcada.

Los autoreceptores dopaminérgicos involucrados en la regulación presináptica de la liberación de dopamina no están relacionados con la adenilato ciclasa (McGeer et al., 1976; Arbilla et al., 1981; Helmreich et al., 1982) y son estimulados por dosis más bajas de agonistas dopaminérgicos que los receptores postsinápticos (Martres et al., 1977; DiChiara et al., 1978). Takeuchi et al., han mostrado recientemente que el haloperidol aplicado localmente modifica la excitabilidad de las

terminales dopaminérgicas in vivo respaldando la hipótesis de que los mecanismos presinápticos mediados por receptores dopaminérgicos contribuyen a la regulación de la transmisión dopaminérgica. La influencia de estos receptores es probablemente dependiente de la velocidad de activación de la neurona pues el efecto del haloperidol sobre la liberación de dopamina varía con la frecuencia y estimulación (Hoffman et al., 1982) observándose una máxima activación con pulsos de trenes de corta duración.

El control local de la liberación de dopamina en la SN puede ser de gran importancia para el sistema de los G.B.. Un incremento en la liberación nigral de dopamina puede producir una disminución en la salida del neurotransmisor de las terminales axónicas en el estriado (Cheramy et al., 1981).

Es importante mencionar los trabajos de Romo et al., (1986) en los que se reportan datos acerca de la regulación presináptica de la liberación de dopamina. Ellos muestran que haciendo una transección que interrumpa las fibras dopaminérgicas nigro-estriatales se reducen los niveles de DA marcada liberados en el caudado en 26%, sin embargo aún continúa la liberación de DA marcada, mostrando que la liberación de esta amina sólo es parcialmente dependiente de la actividad eléctrica. También indican que la liberación de dopamina marcada en el estriado se estimula cuando se aplica GABA en el núcleo tálamico-motor, aún cuando la actividad eléctrica disminuye en la SNC. Postulan por lo tanto que existe una facilitación presináptica mediada por vías mono o polisinápticas involucrada en la liberación de DA en el estriado. Esta facilitación podría estar dada a nivel de una interacción entre neuronas glutamatérgicas cortico-estriatales y

neuronas dopaminérgicas nigro-estriatales en el caudado, pues aunque no se han demostrado anatómicamente se postula que existen sinápsis axo-axónicas en las terminales dopaminérgicas.

EFFECTO INHIBIDOR DE LA DOPAMINA

La inferencia de que la dopamina es inhibidora descansa en dos grandes líneas históricas de evidencia. La primera deriva de métodos neurofarmacológicos que muestran, con registro unitario en neuronas del estriado, que la actividad espontánea de estas células es inhibida después de la aplicación de dopamina o agonistas relacionados (Bloom et al., 1965; Connors J. 1970; Feltz et al., 1972; Gonzalez-Vegas, 1974; Grooves et al., 1975; Grooves et al., 1976; Moore et al., 1978; Norcross et al., 1978). La segunda línea de evidencia es bioquímica y muestra que la administración de agonistas de dopamina a animales resulta en un aumento en la concentración de acetilcolinesterasa en el estriado, mientras que los antagonistas de dopamina producen una disminución en la concentración de este mismo neurotransmisor (Seth et al., 1974; Consolo, S., 1975; Landisky et al., 1978; Bartholini et al., 1981). Estos resultados se interpretan sugiriendo que la dopamina esta inhibiendo a las neuronas de acetilcolina del estriado y que cuando se bloquean los receptores de dopamina por antagonistas se produce un aumento en la actividad de las neuronas colinérgicas.

Otros autores proponen que la dopamina tiene un efecto excitador sobre las neuronas estriatales que utilizan

GABA/sustancia P y un efecto inhibitor en las proyecciones GABA/enkefalinas (Pan et al., 1985; Bouras et al., 1986).

Sin embargo la controversia persiste, aunque inclinándose cada vez más hacia el efecto inhibitor o modulador de la dopamina, sin embargo la discusión detallada de la literatura va más allá del objeto de este trabajo.

FUNCION DE LOS GANGLIOS BASALES

Se postula que existen al menos cinco circuitos G.B.-tálamo-corteza que estan organizados en paralelo pero que se encuentran estructural y funcionalmente separados. Cada uno de estos circuitos involucra regiones separadas de los G.B. y el tálamo y la salida parece llegar a diferentes partes del lóbulo frontal. Existiría así un circuito motor que llegaría al campo motor precentral, un circuito "oculomotor" que llegaría al campo visual y dos circuitos prefrontales en la corteza lateral además de un circuito "limbico" que llegaría a la corteza cíngulada y medial (Alexander, 1990).

Existen ciertos hechos generales de estos circuitos como son: las áreas corticales envían proyecciones excitadoras glutamatérgicas al estriado (Spencer, 1976; Divac, 1977). Los núcleos de los G.B. ejercerían una acción inhibitora mediada por GABA sobre sus núcleos blanco (Penney, 1981; Deniau, 1985). Cada circuito incluye una vía directa que contiene GABA y sustancia P (Graybiel et al., 1983; Albin et al., 1989) que funcionaría como una vía desinhibidora. También tendrían una vía indirecta que contendría GABA y enkefalinas (Graybiel et al., 1983) y que en la

parte final de la ruta utilizaría glutamato (Nakanishi et al., 1987; Smith et al., 1988).

Evidencia reciente sugiere que el circuito motor puede estar involucrado no sólo en la ejecución del movimiento sino también en la preparación del movimiento. Estudios en primates han mostrado que el campo motor precentral y la corteza motora contienen neuronas que muestran cambios en la velocidad de descarga después de la presentación de estímulos que especifican la dirección del movimiento de alguna extremidad (Thach, 1978; Tanji et al., 1980; Weinrich et al., 1982; Wise et al., 1983; Tanji et al., 1985). El hecho de que estas neuronas puedan responder diferentemente a preparaciones o indicaciones de movimiento más que a la combinación de los dos sugiere la posibilidad de que los aspectos relacionados con la preparación y la ejecución del movimiento puedan ser mediados por subcanales separados (Alexander, 1987).

Por otro lado Divac (1977) propuso que el estriado selecciona las unidades corticales que se activan para realizar un movimiento. Esto lo propone en base a que existe una convergencia de llegadas corticales de muchas áreas hacia las células estriatales. Entonces el estriado podría funcionar integrando esta información. Las convergencias cortico-esriatales ponen a las neuronas del estriado en posición de involucrarse en el comportamiento motor y el aprendizaje. En efecto, se ha probado que lesiones en el estriado producen déficits en el aprendizaje (Divac et al., 1978). También existe un sistema de colaterales axónicas que interconectan las neuronas inhibitorias de salida del estriado una con otra (Park et al., 1980; Somogyi

et al., 1981). La actividad de una célula estriatal puede suprimir la actividad de otras neuronas de salida. Estas colaterales axónicas pueden establecerse durante la adquisición de nuevas tareas motoras y quizá cognocitivas. Por lo tanto la salida del estriado puede ser capaz de determinar que actividad cortical es mantenida y cual es suprimida.

Un grupo de neuronas del estriado que disparan juntas pueden constituirse en lo que Buchwald et al. (1979) llamaron un "set de comportamiento". Esta selección de uno u otro "set de comportamiento" puede explicar lo que McLean (1978) estableció acerca de los G.B. y el mantenimiento de comportamientos específicos a la especie.

COMENTARIO

En esta pequeña revisión nos hemos concentrado en el aspecto motor de la función de los G.B. sin embargo es claro que este sistema también está involucrado en una variedad de funciones. Se ha propuesto que los G.B. son parte integral de una serie de circuitos en paralelo que están involucrados en la regulación del comportamiento motor, oculomotor y cognocitivo y en la especificación de ciertas conductas motoras y cognocitivas particulares a cada especie.

EFEECTO DEL ENVEJECIMIENTO SOBRE LA ANATOMIA DE LOS G.B.

A pesar de la importancia evidente de estudiar el sistema nervioso de sujetos ancianos, es realmente poco lo que hasta la fecha se conoce. En cuanto a la anatomía, trataremos de presentar un breve resumen de los cambios en sujetos ancianos, tratando de circunscribirnos al sistema de ganglios basales.

Existen estudios morfológicos (McGeer and McGeer, 1977; McGeer and McGeer, 1978) en cerebros de personas viejas sanas que muestran una disminución en el número de células que conforman la SNC. Por ejemplo, del nacimiento a los 75 años el número de células de la SNC declina de 400,000 a menos de 200,000.

McNeill y col. (1988) estudiando ratones de la cepa C57BL/6 N encontraron que en las neuronas del estriado caudal existe un incremento significativo de la longitud dendrítica total entre los 6 y 30 meses de edad en ratones que no muestran problemas motores, sin embargo en animales con problemas motores existe una disminución en la longitud dendrítica. Los mismos autores midieron la densidad de espinas dendríticas en las neuronas que conectan con las células espinosas medianas I. Encuentran que existe una disminución significativa de espinas dendríticas en los ratones de 30 meses comparados con animales jóvenes. Este grupo sugiere que de acuerdo a sus estudios los cambios estructurales en los parámetros dendríticos estudiados en neuronas de animales viejos señalan al envejecimiento como un balance entre poblaciones neuronales en crecimiento y en regulación, y al menos en esta cepa de ratones en la edad

avanzada el crecimiento dendrítico de las células sobrevivientes no es suficiente para oponerse a los cambios regresivos.

También se sugiere que existen diferencias en el patrón de crecimiento dendrítico entre los tres tipos neuronales del estriado. Estas diferencias en la edad avanzada se pueden relacionar con el tipo de neurotransmisor contenido y con las distintas aferencias.

El grupo de Levine (1988) utilizando gatos de 13-18 años encontraron que las principales alteraciones en el estriado relacionadas con la edad se hallaban en las neuronas espinosas medianas. Estas células mostraron inicialmente una disminución en la densidad de espinas seguida de una disminución en la longitud dendrítica. Cabe aclarar que existe considerable evidencia en roedores, de que las condiciones ambientales juegan un papel muy importante en determinar la severidad y naturaleza de las alteraciones morfológicas (Hinds et al., 1977; Connor et al., 1980).

El grupo de Levine realizó estudios ultraestructurales en gatos de 1 - 22 años. De acuerdo a estos estudios, se aprecia una marcada disminución en la densidad de sinápsis en todos los gatos de más de 3 años. También encuentran que los animales viejos tienen mayor número de cuerpos lipopigmentados y más lipofuscina en el soma y las dendritas proximales de células medianas y grandes del estriado. Otro hallazgo es que las conexiones entre células del estriado y sus aferentes están alteradas en el envejecimiento (Levine et al., 1987a,b).

Utilizando drogas que afectan las células dopaminérgicas

como el MPTP Gupta y Gupta (1988) encontraron que los ratones viejos (21 meses de edad) de la cepa C57BL/6 son más sensibles al tratamiento que los ratones jóvenes y muestran déficits motores y cambios neuroanatómicos más fuertes.

Existe a evidencia (McGeer et al., 1972) acerca de una reducción en el número de células dopaminérgicas de la SNC, sin embargo esto no ha podido ser claramente confirmado en el caso de las ratas.

EFFECTO DEL ENVEJECIMIENTO SOBRE LA BIOQUIMICA DE LOS G.B.

Es bastante abundante la literatura en este aspecto y los estudios se han realizado en varias especies y cepas de animales, además de diferir en las técnicas y edades utilizadas por lo que para facilitar las comparaciones se presentarán los datos en forma de tablas.

En la primera tabla presentaremos los estudios que existen en cuanto a los cambios existentes en la actividad de la dopamina.

 TABLA 1.- CAMBIOS EN LA CONCENTRACION DE LA DOPAMINA EN HUMANOS
 CON LA EDAD.

REF.	RANGO DE EDAD (AÑOS)	n	REGION	DIFERENCIA
Bettler, 1961	43-70;73-87	11	caudado	↓30%
Bird et al.1974	15-90	18	putamen	↓40%
Carlsson et al.1976	47-90	30	putamen	↓40%
Reiderer et al. 1976	50-90	28	caudado	↓50%

 Como se puede apreciar existe una marcada disminución en la concentración de dopamina en humanos viejos y con enfermedades de los G.B. como son córeas, Parkinson y Córea de Húgtington.

En cuanto a los cambios en la actividad de la tiroxina hidroxilasa (TH) en humanos, tenemos los siguientes datos:

 TABLA 2.- ACTIVIDAD DE LA TIROXINA HIDROXILASA EN HUMANOS

REF.	RANGO DE EDAD (AÑOS)	n	REGION	DIFERENCIA
McGeer et al.,1971	5-57	6	caudado	↓80%
McGeer et al., 1976	5-72	28	putamen	↓80%

* la disminución se presenta en la edad adulta media.

En cuanto a los cambios que se producen con el envejecimiento en los receptores dopaminérgicos en humanos, presentamos la siguiente tabla:

TABLA 3.- RECEPTORES DE DOPAMINA

REFE.	EDAD (AÑOS)	n	REGION	DIFERENCIA
Severson et al., 1982	1-100	13	caudado	↓60%. Agonista
	19-80	11	"	↓50%. Agonista
	19-60	12	"	0. Agonista
	1-100	13	"	↓30%. D2
	19-72	13	"	↓30%. D2
	19-60	17	"	0. D2
	1-94	12	S. negra	↓30%. D2
	1-94	13	putamen	0. Agonista
	19-80	11	"	0. Agonista
	19-60	12	"	0. Agonista
	1-94	13	"	0. D2
	19-78	14	"	0. D2
	19-60	12	"	0. D2
Wong et al., 1984	19-72	43	caudado	↓35%. D2
Bzowej et al., 1985	<40; 40-69, >70	81 80 34	caudado putamen estriado	0. D2 0. D2 0. D1
Rinne et al.	0 - 80	65	caudado	↓3.8% D1* ↓4.5% D2*

* perdida promedio por década

Como se puede observar no existe un acuerdo general en cuanto al efecto de la edad sobre los cambios en los niveles de receptores. También conviene aclarar que los cambios observados en los receptores se pueden deber a modificaciones en los constituyentes de la membrana, que se sabe ocurren durante el envejecimiento (Bondy et al., 1989).

En cuanto a los cambios que se presentan en los niveles de dopamina en el estriado de ratas, ratones y otras especies, presentamos la siguiente tabla:

TABLA 4.- CAMBIOS EN LOS NIVELES ESTRIATALES DE DOPAMINA
EN RATAS.

REFE.	CEPA	EDAD	DIFERENCIA
Joseph et al., 1978	Wistar	6,25	↓ 55%
Ponzio et al., 1978	Wistar	3,36	0
Joseph et al., 1980	Wistar	6-8,24	0
Han et al., 1989	Wistar	3-6;24-26	↓ 30%
Austin et al., 1978	Sprague-Dawley	3,6,12,18	↓ 35%
Ponzio et al., 1982	Sprague-Dawley	4,18,29	↓ 40%
Strong et al., 1982	Sprague-Dawley	6,16,26	↓ 20%
Ponzio et al., 1984	Sprague-Dawley	5,15,27	↓ 65%
Demarest et al., 1980	Long-Evans	5,24	↓ 20%
Timiras et al., 1984	Long-Evans	2,4,6,12,24,30	↓ 20%
Hirschhorn et al., 1982	F-344	4,24 4,26	0 ↓ 20%
Marshall et al., 1983	F-344	4-5,27-28	↓ 20%

Ahora presentaremos los resultados obtenidos en ratones.

 TABLA 5.- CAMBIOS EN LOS NIVELES ESTRIATALES DE DOPAMINA EN RATONES

REFE.	CEPA	EDAD (MESES)	DIFERENCIAS
Finch. 1973	C57BL/6J	10-12,28-30	↓25%
Severson et al., 1981	C57BL/6J	8,21 3,12,28	0 0
Osterburg et al., 1981	C57BL/6J	4,12,17,21,30	↓20%
Papavasiliou et al., 1981	Suizos	2,5,17,21	0

En la siguiente tabla se presentaran los datos obtenidos en otras especies.

 TABLA 6.- CAMBIOS EN LOS NIVELES DE DOPAMINA ESTRIATALES.
 DE CONEJOS

REFE.	CEPA	EDAD	DIFERENCIA
Makman et al., 1980	Nueva Zelanda	0.5.5 años	0
PRIMATES			
Sladek et al., 1979	macaco	4,20 años	↓ 60%
Goldman-Rakic et al., 1981	rhesus	2-3,5,10.>18	↓ 35%

 PRIMATES

 En la literatura se discute que las variaciones entre cepas se pueden deber a diferentes métodos usados en las mediciones y también al hecho muy importante de que el envejecimiento parece ser un proceso individual, regulado por factores propios de cada individuo y no regido por un único mecanismo cronológico.

La pérdida de dopamina indicada en la tabla 4 se corrobora con los estudios de la actividad de la TH. Este marcador declina menos en los roedores que en los humanos.

TABLA 7.- CAMBIOS EN LA TH ESTRIATAL CON LA EDAD.

REFE.	CEPA	EDAD (MESES)	DIFERENCIAS
McGeer et al.. 1971	Wistar	2-29	↓ 30%
Joseph et al.. 1980	Wistar	6-8,24	↓ 15%
Reis et al.. 1977	F-344	4.26	↓ 20%
Ponzio et al.. 1982	Sprague-Dawley	4,18,29	↓ 30% *

* la disminución se encuentra en la edad media.

Uno de los marcadores en los que se reportan cambios más consistentes durante el envejecimiento es la densidad de receptores D2 (Bmax) medida con (3H) espiperona. Cabe aclarar que raramente se reportan cambios en la afinidad de estos receptores. A continuación presentaremos una tabla resumiendo los datos reportados en cuanto a los cambios en la densidad de receptores dopaminérgicos.

 TABLA 8.- CAMBIOS EN LA DENSIDAD ESTRIATAL DE RECEPTORES
 DOPAMINERGICOS

A.- RECEPTORES TIPO D-1

REFE.	CEPA	EDAD	DIFERENCIA
O'Boyle et al., 1984	Sprague-Dawley	4,22	0
Giorgi et al., 1986	Sprague-Dawley	3,26	↓ 40%
Battaglia et al., 1988	Fisher 344	4,28	↓ 22%
Hyttel 1989	Wistar	3.5, 6.5 13.7, 16 19.5, 25	↓ 70%

B.- RECEPTORES TIPO D-2

Joseph et al., 1978	Wistar	6,25	↓35%
Govoni et al., 1978	Wistar	10,30	0
Joseph et al., 1981	Wistar	6-8,24	↓30%
Levin et al., 1983	Wistar	4-6,24	↓30%
Henry et al., 1984	Wistar	3-6,24-25	↓25%
Roth et al., 1984	Wistar	3,12,24	↓50%
Hyttel 1989	Wistar	3.5.25	↓69%
Han et al., 1989	Wistar	3-6,24-26	↓35%
Govoni et al., 1980	Sprague-Dawley	3-4,24-30	0
DeBlasie et al., 1982	Sprague-Dawley	3,21-23	↓50%
O'Boyle et al., 1984	Sprague-Dawley	4,22	↓25%
Misra et al., 1981	F-344	7.25	↓35%
Misra et al., 1982	F-344	7.25	↓14%
Marshall et al., 1983	F-344	4-5,27-28	0
Joyce et al., 1986	F-344	5-6,26-28	↓0-60%
Algeri et al., 1982	CD-COBS	5,7,21,26	↓20%
Marquis et al., 1982	CD	6,26	↑350%

En cuanto a las alteraciones en otros neurotransmisores de los G.B. existen pocos datos por lo que vamos a presentar una pequeña tabla resumiendolos.

 TABLA 9.- EFECTO DEL ENVEJECIMIENTO SOBRE ALGUNOS TRANSMISORES

REFE.	CEPA	EDAD	DIFERENCIAS	
ESTRIADO				
DeCeballos et al., 1987	Wistar	3,22	MET LEU NT	↓80% ↓80% ↓65%
McGeer et al., 1971	Wistar	8-24	GAD	0
Calderini et al., 1981	Sprague-Dawley	21	GABA	↑25%
SUSTANCIA NEGRA				
DeCeballos et al., 1987	Wistar	3,22	MET LEU NT	0 ↓40% ↓75%

COMENTARIO

Toda esta información nos deja claro que existe una disminución en la función dopaminérgica nigro-estriatal en humanos y animales viejos. Existe una disminución en la concentración de dopamina. También se disminuye la actividad de la TH y al parecer disminuyen el número y /o la afinidad de receptores D1 y D2 en animales viejos. También parece existir una

autores coinciden con la idea de que muchos de estos cambios se pueden explicar por alteraciones funcionales en la membrana de las células. capítulo que analizaremos ahora.

EFFECTOS DEL ENVEJECIMIENTO SOBRE EL ESTADO DE LA MEMBRANA CELULAR

Es importante señalar que pese a que se sabe que existe un decaimiento progresivo de las funciones del sistema nervioso durante el envejecimiento, relativamente es poco lo que se ha hecho para investigar el efecto de la edad avanzada en las propiedades eléctricas de la membrana de las neuronas. Esto es importante por el papel crítico que juega la membrana en funciones tales como la excitabilidad eléctrica, conducción del potencial de acción, secreción de hormonas y neurotransmisores y transducción de señales mediadas por receptores.

En un trabajo de Scott et al., (1988) utilizando neuronas del ganglio de la raíz dorsal de ratones de la cepa C57BL/6J de 6 a 14 semanas de edad y de 90-92 semanas y con ayuda de la técnica de voltage-clamp y patch-clamp estudia el efecto del envejecimiento sobre una serie de propiedades eléctricas de la membrana. El estudio reporta un incremento del 36% en la depolarización umbral utilizando pulsos de corriente de 10 mseg, con respecto a los animales jóvenes, y un aumento del 46% en la corriente umbral. Estos cambios indican una disminución en la excitabilidad eléctrica en las neuronas de animales viejos. Los autores también reportan un aumento en la duración del potencial de acción del 32% y también un aumento en el voltaje de la posthiperpolarización de 20%. También encuentran un pequeño, pero

significativo aumento en la corriente de K^+ de 3%.

Bondy y col. (1989) comparan los niveles de Ca^{2+} iónico en fracciones sinaptosomales crudas de ratones de 3 y 26 meses de edad y estudian la respuesta de los sinaptosomas al neurotóxico clordecone (un insecticida organoclorado). El trabajo reporta que en reposo los niveles de $(Ca^{2+})_i$ son muy similares en animales jóvenes y viejos, sin embargo el tratamiento con clordecone causa un aumento significativo en la $(Ca^{2+})_i$ en ratones viejos. Además, la permeabilidad de la membrana esta muy alterada en la preparación de animales viejos.

En 1987, Etienne y Baudry proponen una hipótesis del envejecimiento relacionada con una enzima sensible a Ca^{2+} . Ellos postulan que la calpaina que es una proteasa neutral activada por Ca^{2+} es el agente causal en el desarrollo gradual de degeneración y patologías en el cerebro. La mayoría de los sustratos de esta enzima son proteínas del citoesqueleto. Se propone que la calpaina esta involucrada en fijar la velocidad de recambio del citoesqueleto y por lo tanto impone algunas condiciones en la longitud dendrítica y procesos axonales. Las neuronas que contienen bajas concentraciones de calpaina citosólica exhiben una baja velocidad de recambio del citoesqueleto y son comparativamente más estables y menos propensas a los efectos degenerativos que pueden resultar de una prolongada sobreactivación de esta enzima.

En una revisión extensa y profunda, Gibson y Petterson (1987) proponen su teoría del envejecimiento del sistema nervioso y el Ca^{2+} . En este trabajo se indica que el cerebro es particularmente vulnerable a alteraciones en la homeostásis del

Ca²⁺ puesto que es altamente dependiente de numerosos procesos regulados por el Ca²⁺. Aunque los datos bioquímicos y electrofisiológicos no concuerdan pues los primeros indican que el Ca²⁺ disminuye en los animales viejos, los datos electrofisiológicos reportan que hay un aumento en la concentración de Ca²⁺ citosólico libre, estas diferencias pueden ser debidas a que la homeostasis del Ca²⁺ en regiones pre y postsinápticas no responde igual al envejecimiento.

Se sabe que ocurre una disminución en la permeabilidad al Ca²⁺ a través de la membrana durante el envejecimiento en gran cantidad de tipos celulares y organelos y que utilizando compuestos relacionados con el movimiento del Ca²⁺ mejoran muchos eventos alterados en la edad avanzada, como son la liberación de neurotransmisores, proliferación de células T y oxidación de la glucosa.

COMENTARIO

Los datos presentados aquí sugieren que la disminución en la concentración y el movimiento del calcio a través de las membranas que se presenta durante el envejecimiento es crítico para el funcionamiento normal de la célula, aún cuando no sea la causa primaria del fenómeno del envejecimiento.

ELECTROFISIOLOGIA

Los primeros estudios electrofisiológicos de las neuronas de la sustancia negra compacta fueron realizados por Bunney y sus

colegas en 1973. Las características eléctricas obtenidas con registro extracelular unitario para células mesencéfalicas activamente espontáneas fueron: 1) Las células exhiben potenciales de acción bi o trifásicos con una primera fase positiva, 2) La duración de los potenciales de acción es de 2 a 5 mseg y tienen una amplitud pico-a-pico de 0.5 - 1.5 mV, 3) Muestran un patrón de disparo irregular en espigas simples lentas o disparos en ráfagas con trenes formados por 2-8 espigas de amplitud decreciente y duración incrementada, 4) En muchas ocasiones exhiben un hombro en la fase inicial de subida del potencial de acción que se sabe que corresponde al segmento somato-dendrítico. También se ha mostrado que las neuronas dopaminérgicas tienen velocidades de conducción de aproximadamente 0.5 m/s y que tienen axones no miélinicos de diámetro pequeño. (Deniau et al., 1978; Guyenet et al., 1978; Wang, 1979; German et al., 1980; Grace et al., 1980; Groves et al., 1981; Chiodo et al., 1983; White et al., 1984; Grace et al., 1986; Romo et al., 1986; Klemfuss et al., 1987).

En 1980 el método de registro intracelular se empleo para confirmar directamente que las neuronas definidas extracelularmente eran en efecto de naturaleza dopaminérgica.

Realizando análisis estadístico de las características basales de disparo de estas neuronas por el grupo de Groves y col., en 1978 se mostro que la mayoría de las células disparan entre 2.0 y 3.9 espigas/s. También se reportó que 55% de las neuronas muestreadas que disparan espontáneamente lo hacen en ráfagas (Grace et al., 1984 y Clark et al., 1988).

Utilizando inyecciones de amarillo Lucifer Grace y Bunney

(1983) mostraron que la inyección del colorante en una neurona dopaminérgica de la SNC frecuentemente resultaba en la tinción de 2-5 neuronas dopaminérgicas vecinas indicando la posibilidad de uniones estrechas o "gap junction" entre estas células. La evidencia directa de esta suposición se obtuvo utilizando registro intracelular el cual revelo una fuerte sincronía de espigas somáticas de la célula empalada con potenciales rápidos que representan actividad de espigas derivada de neuronas adyacentes acopladas eléctricamente.

Desde hace algún tiempo se conoce que no todas las células dopaminérgicas del cerebro medio son espontáneamente activas en preparaciones de animales anestesiados o paralizados. Se ha mostrado que las neuronas silentes pueden ser obligadas a disparar con la aplicación microiontoforética de glutamato (Skirboll y col., 1981). Se asume que en estudios de registro intra y extracelular del 40-50% de neuronas DA del cerebro medio estan inactivas. Esta inactividad parece deberse al hecho de que las neuronas estan hiperpolarizadas puesto que cuando se aplican neurotransmisores excitadores se provoca que estas células disparen (Skirboll y col., 1981).

En años recientes algunos laboratorios han examinado la actividad eléctrica extracelular de las neuronas de dopamina en gatos y ratas en libre movimiento (Trulson et al., 1981; Miller et al., 1981; Steinfels et al., 1983; Freeman et al., 1985; Strecker et al., 1985). Todos estos estudios han reportado que las neuronas de dopamina disparan en velocidades y patrones muy semejantes a los observados en animales anestesiados (Strecker et

al., 1987). Sin embargo en contraste con las preparaciones anestesiadas aproximadamente el 90% de las células dopaminérgicas registradas muestran actividad en ráfagas; por lo tanto el grado de ráfagas observado parece ser bastante más alto que el registrado en animales anestesiados. También se ha reportado en la rata que la actividad motora gruesa no altera el disparo espontáneo de las neuronas de dopamina, aunque se aprecia un ligero aumento en respuesta al movimiento de las vibrisas.

Hace aproximadamente 6 años se comenzaron a examinar las características eléctricas intracelulares de neuronas DA mesencefálicas en preparaciones en vivo, en rebanadas y más recientemente en células de cultivo primario disociadas. El primero y más extenso estudio de análisis intracelular ha sido publicado por Grace y Bunney (1980; 1983; 1984; 1985; 1986, 1990).

En los estudios en vivo se encuentra que las neuronas de DA en ratas tienen resistencias de entrada que varían de 18-45 megahoms, la constante de tiempo de la membrana es grande (5-14 mseg) y el potencial de membrana en el reposo es de -50 mV. Como ya se había observado con el registro extracelular estas neuronas tienen potenciales de acción que duran de 2-5 mseg. La amplitud de los potenciales oscila entre 55-75 mV. El potencial de acción observado en estas neuronas es seguido por una posthiperpolarización de cerca de 3 mV que se prolonga por 1-6 mseg. La generación de los potenciales de acción en estas células es precedido por una depolarización lenta de 7-20 mV que ocurre espontáneamente en un período de tiempo de 40-120 mseg. Esta depolarización lenta sirve para llevar el potencial de membrana

de su nivel de reposo al valor umbral para la generación de un potencial. El valor umbral, aunque variable generalmente se encuentra en los -43 mV. Así, parece ser que esta larga y lenta depolarización es responsable, al menos en parte, del patrón de disparo lento e irregular de las células dopaminérgicas. El alto umbral de activación de estas células es también una característica inusual que parece estar correlacionada con el valor del potencial de membrana en reposo del soma. La posthiperpolarización parece estar relacionada con la activación de corrientes de K^+ dependientes de Ca^{++} . Por ejemplo, el bloqueo de esta corriente por inyección intracelular de EGTA atenúa la duración y valor de la AHP y lleva a un incremento en el número de potenciales de acción generados por un nivel dado de depolarización y causa que la neurona dopaminérgica cambie de un patrón irregular de disparo a una forma semejante a un marcapaso.

Cuando se estudian estas células en rebanada se confirman algunos datos presentados arriba; sin embargo, por ejemplo la resistencia de entrada de la membrana en rebanadas es considerablemente más alta (arriba de los 300 megahoms) a la observada en vivo. Grace (1987) ha sugerido que el valor obtenido en vivo puede ser resultado de las aferentes que son eliminadas en la preparación de las rebanadas. Aunque se podría sugerir que el cambio en la resistencia es consecuencia de un electrodo mal empalado en la célula, existen varios factores contra esta proposición. Por ejemplo, el patrón de disparo de las células registradas in vivo es muy diferente del encontrado en las células in vitro, aunque es consistente con el patrón encontrado

en con registro extracelular. Además en las células registradas en rebanadas no se aprecia la continua invasión de ipsp's que se registra in vivo (Grace y Bunney, 1985) que podría reducir significativamente la resistencia de entrada.

Los estudios de sustitución iónica han mostrado que la espiga somática de las neuronas dopaminérgicas es dependiente de Na⁺ al igual que el componente temprano de la depolarización lenta; el componente remanente de esta depolarización tiene un valor alto de umbral y parece ser dependiente de Ca⁺⁺. La generación de potenciales de acción somáticos dependientes de Na⁺ esta bajo la regulación de varias otras corrientes no somáticas, quizá la más importante de estas sea la conductancia dendrítica al Ca⁺⁺. La regulación de estas conductancias al Ca⁺⁺ controla así en parte, la descarga espontánea de las células dopaminérgicas y por inferencia la velocidad de liberación dependiente del impulso de la DA en las terminales nerviosas nigro-estriatales.

En animales viejos son realmente pocos los estudios electrofisiológicos existentes. Rogers et al (1988) indican que existen menos de tres docenas de trabajos de registro unitario y envejecimiento. Dentro de este campo el grupo de Levine y col. se ha dedicado al estudio de alteraciones morfológicas, conductuales y electrofisiológicas relacionadas con la edad en el núcleo caudado de gatos principalmente.

En una serie de trabajos (Levine M. S. et al., 1987) ellos muestran que existe una disminución en la excitación de las neuronas del caudado en gatos de 10 años de edad comparados con animales juvenes. Esta disminución en la excitación incluye una

disminución en la velocidad de disparo espontáneo y una disminución en la respuesta excitadora inicial cuando se activan entradas monosinápticas. También el umbral para evocar respuestas excitadoras es más alto que el umbral para provocar respuestas inhibitoras en animales viejos.

En un trabajo reciente de este mismo grupo (Cepeda, C. et al., 1989) se utiliza el registro intracelular para caracterizar los cambios electrofisiológicos que subyacen a la disminución en la excitación observada durante el proceso de envejecimiento. Utilizan ratas Sprague-Dawley de 3-5 meses de edad, 10-12 meses y de más de 24 meses de edad. Encuentran que la corriente umbral necesaria para provocar potenciales postsinápticos excitadores (epsp) fue significativamente más alta en neuronas de ratas viejas. También reportan que hay ausencia de epsp espontáneos y se necesita inyectar una mayor cantidad de corriente intracelular para inducir el disparo. Los autores postulan que una combinación de cambios en la conectividad sináptica y en las propiedades de membrana subyacen a la disminución en la excitación. Los autores también postulan que la disminución en la excitación neuronal es el principal efecto del envejecimiento en el estriado.

Saletu (1989) hace una breve revisión de los cambios que ocurren en el electroencefalograma con la edad (EGG) y reporta que existe un enlentecimiento progresivo de la actividad de fondo con la edad avanzada en condiciones normales. Otros hallazgos en el EGG incluyen un incremento en la alteración focal, una disminución en las diferencias entre áreas, una disminución en la amplitud total y en las respuestas atenuadas a los procedimientos de activación (hiperventilación, manejo fótico y apertura de

ojos). La latencia de los potenciales evocados se incrementa.

Una de las áreas en donde existe un poco más de investigación electrofisiológica es el hipocampo. Aquí Landfield y col.. (1988) encuentran en el animal en vivo y en rebanadas que el fenómeno de potenciación a corto plazo esta deprimido en sujetos viejos. Sus experimentos en rebanadas revelan que los deficits de memoria pueden ser debidos a alteraciones en procesos activados por Ca^{++} .

En una revisión de Decker (1987) se propone que la respuesta del sistema colinérgico esta alterada durante el envejecimiento. Tanto la síntesis como la liberación de acetilcolina están disminuidas. También la respuesta electrofisiológica de las neuronas postsinápticas a la acetilcolina esta reducida.

Smith y Rosenheimer (1984) publicaron datos que indican que algunos problemas de coordinación motora relacionados con el envejecimiento podrían estar relacionados con un aumento en el retardo sináptico en nervios periféricos. Sin embargo ellos concluyen que los cambios en la velocidad de conducción de impulsos en los animales viejos son principalmente a nivel de las rutas centrales que controlan el movimiento motor.

Recientemente (1989) Freeman y col. publicaron un artículo en el que analizan algunas características electrofisiológicas y farmacológicas de células dopaminérgicas en ratas Fisher 344 jóvenes (3 meses) y de 24-28 meses. Ellos reportan que la frecuencia promedio de disparo, la distribución de frecuencias de disparo y la incidencia de actividad espontánea medida como número de células registradas por tracto del electrodo no cambian

en ninguna región de la sustancia negra compacta en función de la edad. Tampoco la potencia inhibitoria de la apomorfina, el quinpirole y la anfetamina cambian con la edad. Este artículo es muy interesante pues nos servirá como base para discutir y comparar los resultados de esta tesis.

FUNCION DE LAS CELULAS DOPAMINERGICAS DENTRO DE LOS G.B.

Tomando en cuenta nada más los datos acerca de la forma de disparo y la conectividad de las neuronas dopaminérgicas se puede postular que las células que disparan en ráfagas pueden liberar mayor cantidad de dopamina que simplemente aumentar la frecuencia de disparo de las células en espigas sencillas. Este fenómeno se puede volver más significativo cuando se relaciona con la anatomía del sistema nigro-estriatal. Se puede postular que pequeños grupos de neuronas de dopamina que esten acopladas eléctricamente y por lo tanto disparen simultáneamente (Grace y Bunney, 1983), inervan topográficamente distintos campos terminales dentro del estriado (Guyenet et al., 1978; Swanson, 1982) con procesos terminales masivamente arborizados dentro de regiones estriatales circunscritas (Anden et al., 1966). La interacción de las características anatómicas y electrofisiológicas de este sistema sugieren un arreglo donde un pequeño grupo de neuronas de dopamina son capaces de acoplarse a una forma de mínima liberación de dopamina en donde ellas ejercerían una influencia periódica masiva sobre una región circunscrita del estriado. Además esto podría proporcionar una base fisiológica para un modelo especulativo acerca de la modulación del movimiento por la dopamina (Grace, 1983). El

mantenimiento del tono muscular en el estado de mínima liberación de dopamina y la transición hacia la pérdida del tono en un grupo específico de músculos antagonistas para permitir la realización del movimiento. En el caso de la enfermedad de Parkinson la disminución en el número de neuronas combinada con la capacidad reducida en la liberación masiva de dopamina puede probablemente ser responsable del acentuado tono muscular y la capacidad limitada de realizar movimientos rápidos.

Esto se puede postular basandose en el hecho bien conocido de que el sistema dopaminérgico esta involucrado en el control del tono muscular. En ausencia de entradas dopamiérgicas al estriado, se incrementa el tono de la musculatura y se presenta una alta resistencia a la manipulación muscular externa o a la realización de movimientos voluntarios. Por el otro lado la sobreestimulación del sistema dopaminérgico produce movimientos involuntarios.

TRANSPLANTES

Los trasplantes de tejido nervioso han sido usados para corregir deficiencias producidas genéticamente o para revertir el efecto de malfunciones debidas ya sea a lesiones o a problemas endógenos como el envejecimiento.

La historia de los intentos de trasplantes de tejido al cerebro se remonta hasta principios de este siglo, sin embargo no es si no hasta la última década cuando se caracterizaron las condiciones necesarias para una mejor supervivencia del tejido.

Existe una muy abundante literatura al respecto, sin embargo mencionaremos sólo algunos de estos trabajos. Quizá una serie de

reportes de los más representativos en este campo son los trabajos de Freed (1980, 1981, 1983), en los cuales reporta que el trasplante de células cromafines al estriado de ratas lesionadas en la vía nigro estriatal reduce el comportamiento de giro ocasionado por la lesión. El grupo de Nishino ha trabajado bastante en este campo y reportan en 1988 que las células adrenales fetales en suspensión aplicadas a la cabeza del caudado de ratas con lesión de 6-OHDA se transforman en células dopaminérgicas, volviéndose positivas a la inmunotinción para TH. Estas neuronas hacen sinapsis con células del caudado, y los niveles de DA, DOPAC y HVA medidos por diálisis in vivo se recuperan en un 20-50%. Este mismo grupo realizó un trabajo estudiando el comportamiento de células en suspensión implantadas en el tercer ventrículo y en el parénquima del estriado, observando que las células colocadas en el tercer ventrículo se extienden y ramifican mejor que aquellas que se encuentran en el parénquima observando que la extensión de la ramificación corresponde con la recuperación del comportamiento de giro.

Sin embargo, de nuevo nos encontramos con que la investigación del efecto de los trasplantes en animales viejos no es muy abundante y en todo caso esta casi circunscrita al aspecto conductual y de aprendizaje existiendo muy pocos trabajos sobre el efecto electrofisiológico de los trasplantes.

Gage y Bjorklund en una revisión de 1986 indican que han transplantado exitosamente una suspensión de células preparadas del mesencéfalo ventral y el área de la banda diagonal septal de fetos de ratas y la han colocado en el estriado e hipocampo de

ratas de 21-23 meses de la cepa Sprague-Dawley. La sobrevivencia del trasplante es comparable a la vista con animales jóvenes y se encuentra que el trasplante es capaz de formar contactos sinápticos maduros con neuronas en el hipocampo; sin embargo el patrón de conexiones establecidas fue más difuso y parcialmente diferente del de un animal joven.

En estos estudios y utilizando una batería de pruebas de coordinación motora descrita por Campbell, Gage y col. encuentran que 12 semanas después del trasplante de células en suspensión las ratas viejas muestran un marcado y significativo mejoramiento en el equilibrio y la coordinación de las extremidades en las pruebas.

Cuando prueban los cambios en aprendizaje y memoria con la prueba diseñada por Morris, encuentran que los animales presentan, como grupo, una mejoría significativa. Los autores comentan que estos resultados demuestran la habilidad de los trasplantes de mejorar algunos problemas motores y de comportamiento cognocitivo relacionados con la edad. Ellos proponen que los trasplantes están ejerciendo su efecto probablemente en base a la difusión de aminas o péptidos al líquido cefalorraquídeo y/o por la capacidad de las células inyectadas de reinervar algunas partes del cerebro.

Existe una vasta línea de estudios en los cuales se utilizan trasplantes principalmente de hipotálamo en animales viejos y se analiza la recuperación de la función sexual. Parece que la mayoría de los trasplantes de este tipo son exitosos. Aquí sólo mencionaremos como ejemplo los trabajos de Matsumoto et al (1984)

y el artículo de Huang et al (1987).

En un trabajo de 1985 el grupo de Tohyama, prueba que en animales jóvenes con lesión unilateral de la vía nigro-estriatal y con trasplante al tercer ventrículo de tejido fetal conteniendo sustancia negra y área ventral tegmental en forma de suspensión existe una clara recuperación en cuanto al comportamiento de giro además de encontrarse que axones no inmunoreactivos a TH hacen contacto sináptico con cuerpos celulares transplantados reactivos a TH y también contactan con sus dendritas. Estos autores proponen que la formación de nuevos circuitos neurales puede ser la base de la recuperación funcional.

Igualmente Norman y col. (1988) destruyen el cuerpo estriado con ácido kaínico y después implantan tejido estriatal fetal de 17-19 días encontrando una disminución en la taza máxima de rotación y en la topografía de la locomoción obteniendo estos resultados 5 semanas después del trasplante.

En otro trabajo del grupo de Nishino (1988) se realizan trasplantes de médula adrenal fetal de fetos de 1-6 días que se implantan en la cabeza del caudado de ratas unilateralmente lesionadas con 6-OHDA. Cuatro semanas después del trasplante se encuentran en la mitad de las ratas una mejoría en el giro inducido por anfetamina. En los animales que se recuperan la inmunihistoquímica muestra células positivas a TH en el tracto de inyección. Además las células cambian su morfología encontrándose al menos dos tipos: unas células grandes que proyectan varias neuritas y otras más pequeñas, bipolares y con pocas ramificaciones. En los animales con pobre o nula recuperación

motora usualmente no se detectan células reactivas a TH.

Usando la microscopía electrónica el mismo grupo muestra que 16 semanas después del trasplante las células cromafines se han desarrollado en neuronas maduras. Cuando se realiza diálisis en vivo se encuentra que el nivel de dopamina, que en animales intactos es bajo (0.8 - 1.5 ng/ml) en animales con lesión no se detecta y en animales con trasplante, el nivel de dopamina aún cuando es bajo muestra una recuperación del 50% (0.63 ng/ml) y los metabolitos de la dopamina, DOPAC y HVA se recuperan en un 15 -20%.

Sladek Jr. y col. (1988) publicaron un trabajo en donde realizan trasplantes de neuronas del locus ceruleus fetal al tercer ventrículo de ratas F344 de 24 meses de edad. Esto lo hacen con el objeto de estudiar mejoras en tareas de aprendizaje, las cuales son mal realizadas por los animales viejos. Después del trasplante estos animales muestran una mejoría en la ejecución de las pruebas.

En un estudio voltamétrico, Forni y col. (1989) monitorean la actividad de la dopamina de un trasplante de células mesencefálicas en suspensión, en ratas con lesión en el caudoputámen. A partir de 2.5 meses después del trasplante encuentran una recuperación de la señal voltamétrica a niveles cercanos a los obtenidos en ratas con el estriado intacto.

Un estudio muy interesante es el de Pezzoli y col. (1988) en el cual ellos usan ratas Sprague-Dawley de 6 - 8 semanas y 20 - 22 meses de edad lesionadas en la vía estriado-nigral con 6-OHDA. Estos animales se probaron con apomorfina para la conducta de

giro. Subsecuentemente los animales recibieron trasplantes intraparenquimales o intraventriculares de médula adrenal o tejido adiposo o nervio ciático, estos últimos como control. También recibieron Factor de Crecimiento Nervioso (NGF) por medio de una bomba Alzet subcutánea. En animales jóvenes la rotación disminuyó en un 40% con trasplantes de médula adrenal ya sea en el ventrículo solamente o en el ventrículo y el estriado. Los trasplantes de ciático o médula adrenal más NGF producen una disminución del 70% de la conducta de giro. La misma disminución se obtiene en ratas viejas. Al cesar la administración de NGF el número de giros vuelve a incrementarse tanto en animales jóvenes como en animales viejos, pero con respecto al control aún permanece disminuido en un 40%.

Estos autores proponen como su principal aportación que la infusión de NGF más cualquier tejido transplantado reduce la cantidad de giros en ratas lesionadas. Sin embargo esta mejoría no es apreciada cuando solamente se administra NGF. Esto indicaría que la administración de NGF después del trasplante puede mejorar la recuperación y también que los trasplantes de tejido no neural más NGF pueden ser efectivos.

Gage y col. realizaron un estudio de trasplantes de médula adrenal fetal a ratas hembras de 21 - 23 meses de edad. Doce semanas después del trasplante y probando a las ratas con un batería de pruebas de coordinación motora encuentran que los animales con trasplante presentan una sensible mejoría en el control del balance y en la coordinación de las extremidades.

COMENTARIO

Como se puede apreciar de la revisión presentada antes, existe un notable interés en establecer las mejoras que los trasplantes puedan proporcionar a animales con problemas motores y/o de aprendizaje debidos a la edad. Además, como se menciona al principio de esta sección, a pesar del indudable interés que han despertado los trasplantes y de los resultados bastante satisfactorios obtenidos con esta técnica, existe muy poca investigación del efecto de los trasplantes sobre las propiedades electrofisiológicas de las neuronas de los núcleos relacionados con el tejido implantado.

Con los antecedentes presentados resalta la importancia de estudiar el estado electrofisiológico de las neuronas de la SNC en animales viejos y el establecer si los trasplantes de tejido adrenal fetal en estos animales pueden reestablecer algunas condiciones de las células de la SNC perdidas durante el proceso de envejecimiento.

II.- HIPOTESIS.

La sustancia negra compacta está involucrada en el control del movimiento a través de sus interacciones con el sistema de ganglios basales. Con los antecedentes presentados en la introducción de este trabajo proponemos que los problemas motores puedan ser debidos en parte a una alteración en la actividad eléctrica de las células de la SNC y que la presencia de un trasplante puede restaurar algunas características de estas neuronas.

III.- OBJETIVO

Esta tesis tiene como objetivo determinar si la actividad eléctrica extracelular de las neuronas de SNC se encuentra alterada en animales viejos y analizar el efecto en la actividad eléctrica de las neuronas de SNC después de un trasplante de médula adrenal fetal al ventrículo lateral de animales viejos sanos.

IV.- MATERIAL Y METODO

a).- Animales y procedimiento de anestesia.

Se realizaron experimentos agudos en ratas macho albinas de la cepa Wistar, con edades de 3 meses y con un peso de 240-260 gr, y en ratas con edades de 18 meses, 20 meses, 22-24 meses y con pesos de 400-700 gr. Para anestesiarse a los animales estos se depositaron en un recipiente de plástico cerrado conectado a una manguera por la que circulaba halotano (ICI). El nivel de anestésico se controlaba mediante un vaporizador (Drager) por el que circulaba una mezcla de O₂-CO₂ (95%-5% respectivamente).

Una vez anestesiado el animal, se le practicaba una traqueostomía y se le fijaba a una cánula plástica en forma de "Y". Una salida de la cánula conectaba a la manguera por la que circulaba la mezcla del anestésico O₂-CO₂ y la otra salida a un extractor de vacío que ayudaba a mantener constante el nivel de anestesia (0.8 - 0.4% durante el registro). El excedente de anestesia expelido por el animal se pasaba a un recipiente que contenía aceite mineral en el que se disolvía el halotano. La temperatura corporal se media rectalmente y mantenía a 36-37 grados centígrados mediante colchones de agua caliente cambiados regularmente.

b).- Cirugía, materiales y equipo para el registro electrofisiológico.

Cuando la intubación traqueal se completaba el animal era fijado a un aparato estereotáxico (David Kopf 7000).

El registro extracelular unitario se efectuó en la parte compacta de la sustancia negra. El trépano se realizó con las

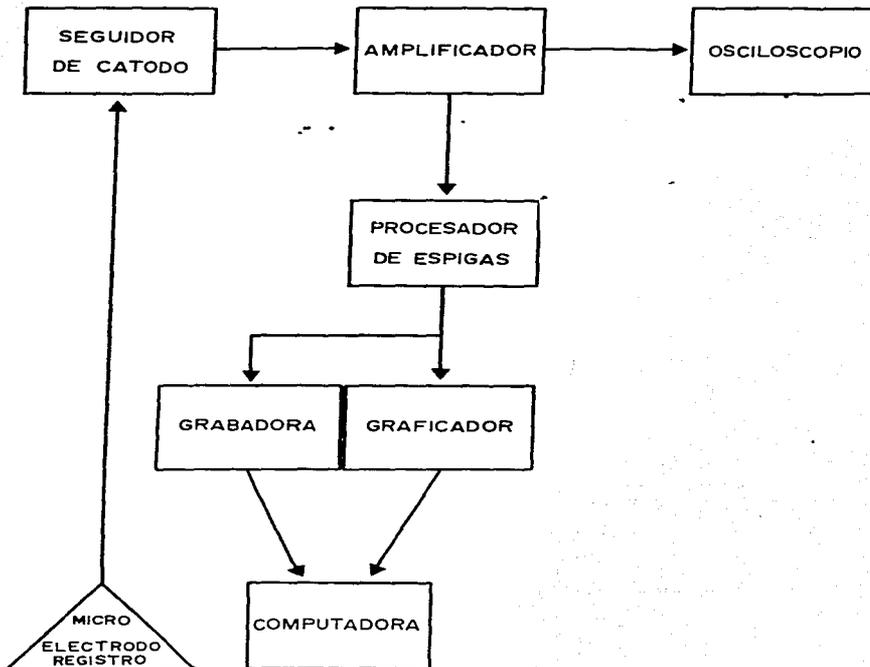
siguientes coordenadas estereotáxicas tomando la sutura Bregma como referencia: posterior -5.2 mm, lateral -1.5 mm. La barra de los incisivos se fijó a -2.5 mm de acuerdo al atlas de König y Kippel.

El registro se realizó con microelectrodos de vidrio (A-M Systems Inc. No. 6030) obtenidos con un estirador de pipetas (David Kopf modelo 700 C). Los electrodos con una punta de 1-2 μ m de diámetro se llenaron con una solución de azul de Pontamina al 2% en acetato de sodio 0.5 M. La impedancia de los electrodos fue de 10-18 Mohms medida a 100 Hz con un probador de resistencias (Winston Electronics BL-100). El electrodo se introdujo con un micromanipulador hidráulico (David Kopf 607 W) hasta una profundidad de 6.5 - 7.5 mm a partir de la superficie cortical.

Para el registro eléctrico se utilizó el siguiente equipo (ver Figura 7) : Al microelectrodo de registro se le introdujo un alambre de plata clorurado el cual crea una unión no polarizada y libre de ruido con la solución iónica del electrodo (Skinner, 1975). El alambre de plata se conectó a un preamplificador con una impedancia de entrada muy alta (alrededor de 100 Mohms), una ganancia de uno y una impedancia de salida baja (150 ohms) (Grass Instr. HIP 511 E). Este a su vez, estuvo conectado a un amplificador de corriente alterna (AC, Grass Instr. P 511 J). Los filtros que se utilizaron en este amplificador fueron 100 Hz para el de baja frecuencia, (este filtro sirve para remover el componente AC llevandolo a tierra a través de un capacitor) y 0.3 KHz para el de alta frecuencia (éste es un circuito acoplado-AC que utiliza las cualidades del capacitor que por tener una baja

Figura 7.- Se presenta el esquema de registro utilizado. Los parámetros de filtros, velocidad de barrido, amplificación y el sistema de captura de datos están explicitados en el texto.

DIAGRAMA GENERAL DEL SISTEMA DE REGISTRO



impedancia para señales de alta frecuencia y una alta impedancia para frecuencias bajas, permite sólo el paso de señales de alta frecuencia rechazando las de baja frecuencia). La amplificación utilizada fue generalmente de 50-100 veces. La señal del amplificador se envió a un osciloscopio (Tektronix 5113). La base de tiempo del osciloscopio se fijó en 5 mseg/división, valor que permitió tener un panorama completo del evento registrado. También se utilizó una base de tiempo de 1 seg/division para analizar el comportamiento en ráfagas.

La señal amplificada se conectó también a un procesador de espigas (Digitimer D 130) con un nivel seleccionable de voltaje o ventana, para digitalizar la señal a 1000 Hz y a una computadora IBM-Printaform para analizar y procesar las señales. El programa de computo utilizado fue diseñado por el departamento de Cómputo del IFC y contiene también una ventana que permite seleccionar la señal. El programa también permite analizar el promedio y el tipo de disparo de la célula, (espiga sencilla o ráfaga). De acuerdo con los parámetros descritos por Grace y Bunney (1983) una ráfaga en una célula dopaminérgica se definió como un conjunto de espigas con un intervalo entre ellas menor de 80 mseg. Cuando el intervalo es mayor de 160 mseg se consideró el fin de la ráfaga. Asimismo el programa permitió construir histogramas de frecuencia de disparo y de intervalo promedio y almacenar todos los datos en discos.

En algunas ocasiones se tomaron fotografías de la pantalla del osciloscopio. La memoria fluorescente de la pantalla permite fijar uno o más trazos. Para ello se utilizó una cámara Tektronix (C - 5C). El tiempo de apertura fue de 2.5 - 3.0 seg. Se utilizó

película 3000 ASA (Polaroid 667) de revelado instantáneo.

La identificación electrofisiológica de las células registradas como pertenecientes a la población de la SNC se efectuó por su localización, frecuencia de disparo y forma del potencial de acción (Grace et al, 1979). La verificación final se realizó histológicamente. El área de registro se marcó inyectando azul de Pontamina contenido en la pipeta de registro. Con este fin se pasó al final del experimento corriente negativa (0.1 uA/30-60 min).

c).- Substancias

Se utilizó Quinpirole (LY 171555 quinpirole, trans-(-) (4aR)-4,4a,5,6,7,8,8a,9-octahidro-5-propil-1H-pyrazolo(3,4-g) quinolina), que es un componente de la familia ergot que funciona como agonista de receptores D2. Se utilizó a una concentración de 0.1M y 0.01 M disuelta en solución salina esteril. Se administró por vía intraperitoneal.

d).- Transplantes.

Se transplantó medula adrenal fetal de embriones de 17 días de gestación al estriado intacto de ratas con 20 meses de edad. El animal receptor se anestesió con halotano, se fijó a un aparato estereotáxico (David Kopf), se le afeitó el cráneo y se le practicó un trépano con las coordenadas + 1.0 A.P., -1.1 L y -1.6 vertical. Aquí se fijó una cánula guía de acero inoxidable. A la hembra donante se le anestesió con hidrato de cloral 1 ml/100 g de peso y se le extrajeron los fetos. bajo un microscopio se disectó la glándula suprarrenal y por medio de una

jeringa de insulina con solución salina se absorbió el tejido y se inyectó a través de la cánula guía en el estriado. El cráneo del animal receptor se suturó y el animal se pasó a una caja en donde tenía cereal con leche para comer y agua, además de un colchón eléctrico. Después del período postoperatorio los animales dejaron recuperar 2 meses antes de proceder al registro.

e).- Protocolo de registro

Para realizar los experimentos los animales se dividieron en cinco grupos de acuerdo a su edad y tratamiento. El grupo control estuvo formado por 33 animales que tenían 3 meses de edad, el grupo de animales de 18 meses de edad estuvo compuesto de 9 animales, el siguiente grupo fué el de 20 meses de edad que se conformó con 7 animales y el grupo de 22-24 meses de edad estuvo formado por 6 animales. El grupo de animales transplantados consistió en 6 animales que recibieron el trasplante de médula adrenal fetal cuando contaban con 20 meses de edad y fueron registrados cuando contaban con 22 meses de edad.

Además de estos grupos se realizó un experimento control con un animal de 20 meses de edad al cual se le practicó un trasplante falso bajo las mismas condiciones que el grupo denominado "transplantados" y se le registró cuando contaba con 22 meses de edad. Todos los grupos siguieron el mismo protocolo de registro que se describe a continuación.

En una primera etapa del experimento se localizaba una célula que por sus características de frecuencia de disparo, forma de la espiga y profundidad coincidiera con los criterios

descritos en la literatura para células pertenecientes a la SNC. Una vez localizada la célula se procedía a registrar la frecuencia de disparo basal de la neurona mediante el procesador de espigas y la computadora durante un mínimo de 10 minutos. En una célula por animal, después de 10 minutos de registro se aplicaba el quinpirole mediante una inyección intraperitoneal, se marcaba en el programa de la computadora el momento de la inyección y se continuaba monitoreando la frecuencia de disparo durante 10 minutos más cuando menos.

f).- Verificación histológica.

Al final de los experimentos se procedió a inyectar azul de pontamina a través del electrodo, utilizando para este fin corriente negativa de aproximadamente 0.1 uA durante 30-60 minutos. Posteriormente se sacrificó al animal mediante una sobredosis de anestesia. Se perfundió transcárdialmente con solución salina y formol al 10%. El cerebro se cambió a una solución de formol al 10% con sacarosa al 10% y se dejó por una día en esta mezcla. Posteriormente se sometió a una inmersión en parafina y se obtuvieron cortes de 15 uM. La tinción se realizó con la técnica de Kluver-Barrera.

g).- Inmunoquímica

En el caso de los animales transplantados, después del registro estos fueron sacrificados con un exceso de anestesia, la perfusión se realizaba transcárdialmente con solución salina y Saborsky. Posteriormente el cerebro de la rata se extraía y se

pasaba a una solución de buffer de fosfatos 0.1 M con sacarosa al 10%. En esta solución el cerebro se dejó por 2 días, pasándose después a una solución con sacarosa al 20% 2 días y por último sacarosa al 30% dos días. Los cerebros se cortaron por congelación en un Microtomo a 40 μ M. Los cortes se depositaron en cajas de cultivo que contienen buffer de fosfatos 0.1 M. Se lavaron 3 veces por 10 minutos con este buffer y se incubaron con el anticuerpo a TH disuelto 1:1000 en PBSGT. En el anticuerpo se dejaron 2 días, se lavaron de nuevo los cortes con PBS 0.1 M y se incubaron con el Kitt de Avidina-Biotina IGG anti-conejo. Los cortes se hicieron reaccionar con diaminobenzidina y se montaron en portaobjetos cubiertos con gelatina.

h).-Estadística.

En un primer acercamiento se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis de tendencias. Además se utilizaron las pruebas de t de dos colas para grupos independientes, la prueba de t de dos colas para grupos pareados y la prueba de chi-cuadrada. En todos los casos se compararon el grupo control (animales de 3 meses de edad) contra todos los demás grupos, y también todos los grupos entre sí.

V.- RESULTADOS

a). Frecuencia de disparo.

En animales jóvenes se registraron 79 células dentro de la SNC. Estas neuronas tuvieron una frecuencia de disparo promedio \pm E.S. de 3.57 ± 0.26 espigas/seg (Tabla 10). Tanto el ANOVA como el análisis de tendencias indicaron la existencia de diferencias altamente significativas entre los grupos de animales con valores para la F de 6.58 $P < 0.001$ (g.l. = 4) y 20.33 $P < 0.001$ (g.l. = 3) respectivamente. Las 20 neuronas registradas en animales de 18 meses tuvieron una frecuencia de disparo de 2.46 ± 0.66 espigas/seg. En el grupo de ratas de 20 meses de edad se registraron 21 neuronas dentro de la SNC las cuales tuvieron una frecuencia de 1.59 ± 0.29 espigas/seg, lo que representa una disminución estadísticamente significativa ($P < 0.01$) con respecto al grupo de animales jóvenes (Tabla 10 y Figura 3). En ratas de 22-24 meses de edad se registraron 20 neuronas que proporcionaron una frecuencia promedio de disparo de 1.48 ± 0.29 espigas/seg que también es significativamente diferente ($P < 0.001$) del grupo de animales jóvenes. Finalmente en los animales con transplante de médula adrenal fetal se registraron 28 células con una frecuencia promedio de disparo de 2.49 ± 0.33 espigas/seg, la cual también es significativamente diferente del grupo joven, sin embargo es similar a la frecuencia obtenida en el grupo de animales de 18 meses de edad (Tabla 10 y Figura 3). Comparando las frecuencias de disparo entre los grupos de animales viejos y de animales transplantados, encontramos diferencias significativas entre las ratas de 20 meses y los animales transplantados ($P < 0.05$) y entre los animales de 20-22

Figura 3.- Frecuencias de disparo promedio (\pm E.S.)

Se observa una disminución en la frecuencia de disparo relacionada con la edad. En los animales que tienen el trasplante de médula adrenal fetal se observa una recuperación parcial de la frecuencia.

* $P < 0.05$ con respecto al control (grupo de animales con 3 meses)

** $P < 0.01$ con respecto al control

*** $P < 0.001$ con respecto al control.

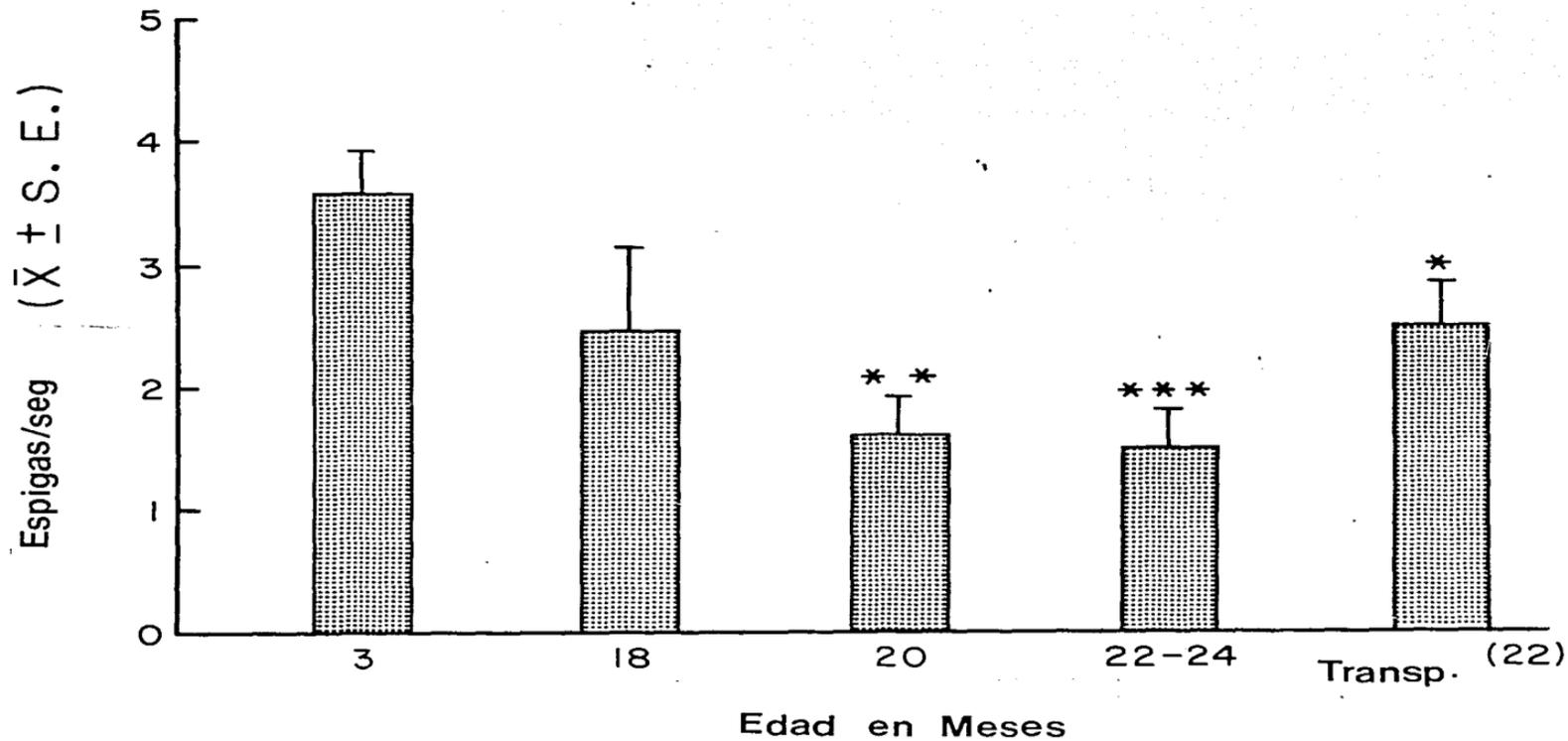


TABLA 10.- FRECUENCIA DE DISPARO PROMEDIO.

EDAD (MESES)	n	FREC. DISPARO ($\bar{X} \pm E.S.$) ESPIGAS/SEG
3	78	3.57 \pm 0.26
18	20	2.46 \pm 0.66
20	21	1.59 \pm 0.29** #
22-24	20	1.48 \pm 0.29*** #
TRANSP.	28	2.49 \pm 0.33*

* p < 0.05 con respecto al control (3 meses).

** p < 0.01 con respecto al control.

*** p < 0.001 con respecto al control.

p < 0.05 con respecto al grupo con transplante.

ANOVA F = 6.58 (g.l. = 4)

meses y el grupo con transplante ($P < 0.05$).

b).- Frecuencias de disparo en células fuera de la SNC.

En animales jóvenes se registraron 25 células que no estaban situadas dentro de la SNC. La frecuencia de disparo de estas células fue de 2.77 ± 0.41 espigas/seg. En los animales con 18 meses se registraron 17 células fuera de la SNC, estas tuvieron una frecuencia de disparo de 2.98 ± 0.36 espigas/seg. Para los animales con 20 meses de edad, se registraron 15 células fuera de la SNC con una frecuencia de 1.62 ± 0.46 espigas/seg. En el grupo de animales con 22-24 meses de edad se registraron 10 células con una frecuencia promedio de 1.59 ± 1.13 espigas/seg. y finalmente en los animales con transplante se registraron 12 células fuera de la SNC con una frecuencia promedio de 1.45 ± 0.95 espigas/seg. Solamente el grupo de animales de 22 a 24 meses de edad tuvo una disminución significativa en su frecuencia de disparo comparado con el grupo control ($P < 0.05$). La prueba de ANOVA dió una $F = 2.65$ (g.l. = 4) y no fue significativa (tabla 11).

c).- Análisis del patrón de disparo.

Empleando el método reportado por Grace y Bunney (1984) para identificar a una célula de SNC como célula con patrón de disparo en ráfagas, se encontró que en el grupo de animales con 3 meses de edad el 32% de las células muestreadas disparan en forma de ráfaga (Tabla 12). En el grupo de 18 meses de edad se mantiene la relación pues un 38.8% de las neuronas dispararon con el patrón de ráfagas. En el grupo de animales con 20 meses solamente un 23% de las neuronas disparaban en ráfagas presentando una disminución

TABLA 11. FRECUENCIA DE DISPARO EN CELULAS FUERA DE LA SNC

EDAD (MESES)	n	FREC. DISPARO (X ± E.S.) ESPIGAS/SEG
3	25	2.77 ± 0.41 .
18	17	2.98 ± 0.36
20	15	1.62 ± 0.20
22-24	10	1.59 ± 0.40 *±
TRANSP.	12	1.45 ± 0.47 ±

* p < 0.05 con respecto al control.
 ± p < 0.05 con respecto al grupo 18 M.
 ANOVA F = 2.65 (g.l. = 4).

TABLA 12.- PORCENTAJE DE CELULAS CON PATRON DE DISPARO EN RAFAGAS

EDAD MESES	CELULAS EN RAFAGA (%)	CELULAS EN ESPIGAS SENCILLAS (%)
3	32	68
18	38.8	61.1
20	23.1	76.9
22-24	22.2	77.7
TRANSP.	21.2	78.8

en el porcentaje de este tipo de células comparando con los valores obtenidos en animales jóvenes. En los animales con 22-24 meses el 23% de las células disparaban en ráfagas y en el grupo de animales transplantados el 21.2% (Tabla 12).

d).- Intervalo entre espigas.

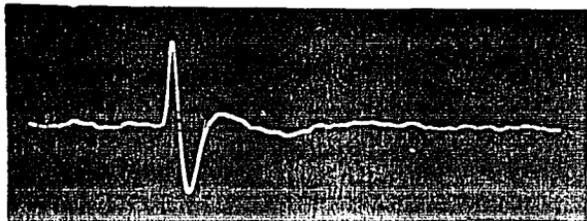
El intervalo entre espigas ($X \pm E.S.$) para el grupo de animales jóvenes fue de 429 ± 29 mseg, para el grupo de ratas con 18 meses de edad el intervalo fue de 555 ± 51 mseg, para las neuronas de las ratas con 20 meses de edad el intervalo fue de 740 ± 63 mseg, para los animales con 22-24 meses de edad el intervalo fue de 981 ± 59 mseg y finalmente para el grupo de animales transplantados el intervalo fue de 407 ± 87 mseg. En este análisis se incluyeron todas las células, independientemente de si disparan en forma de ráfagas o de espigas sencillas. La prueba de ANOVA dió una $F = 2.52$ (g.l. = 4) siendo significativa a un 5%.

e).- Frecuencia de disparo promedio entre espigas sencillas

Las células clasificadas como espigas sencillas tuvieron la siguiente frecuencia de disparo promedio: las neuronas de animales de 3 meses tuvieron una frecuencia de 2.80 ± 0.48 espigas/seg, las del grupo de 18 meses tuvieron una frecuencia de 1.35 ± 0.36 espigas/seg, las del grupo de animales de 20 meses tuvieron una frecuencia de 1.17 ± 0.14 espigas/seg. Los animales con 22-24 mese de edad tuvieron una frecuencia promedio de 1.12 ± 0.36 espigas/seg y finalmente los animales con transplante

Figura 4.- En esta fotografía se muestra el trazo obtenido del osciloscopio de una célula que disparaba en forma de espiga simple y una célula que disparaba en ráfagas. Se presentan dos velocidades de barrido diferentes.

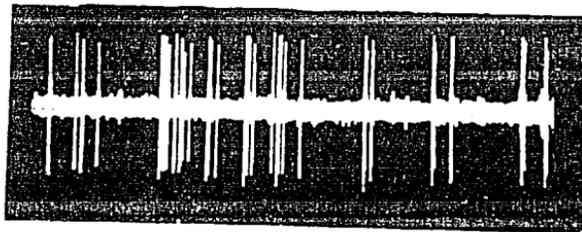
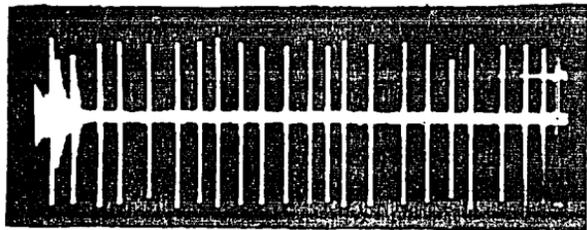
Espiga Sencilla



Célula en Ráfaga



5 mV
5 ms



5 mV
1 s

TABLA 13.- FRECUENCIA E INTERVALO ENTRE ESPIGAS

EDAD (MESES)	n	FREC. DISPARO (X ± E.S.)	INTERVALO ENTRE ESPIGAS (X ± E.S.)
3	28	3.0 ± 0.7	429 ± 39
18	12	2.17 ± 0.69	555 ± 51
20	20	1.48 ± 0.29 *&	740 ± 63 &
22-24	13	0.82 ± 0.56 ±&	981 ± 59 \$
TRANSP.	28	2.49 ± 0.33	407 ± 87

* p < 0.05 con respecto al control.

± p < 0.001 con respecto al control.

ANOVA F = 2.52 (g.l. = 4) ng 5%

\$ p < 0.001 con respecto al control.

& p < 0.001 con respecto al grupo transp.

tuvieron una frecuencia de 1.84 ± 0.23 espigas/seg. Usando una prueba de t se encontró que con respecto al control, todos los animales adultos presentan una disminución en la frecuencia de disparo significativa a $P < 0.05$. Los animales con transplante no son significativamente diferentes del control (Tabla 14). La ANOVA dio una $F = 5.23$ (g.l. 71,4) significativa a 1%.

f).- Intervalo entre espigas sencillas

Dividiendo a las células de acuerdo a su forma de disparo encontramos en las células que disparaban en forma de espigas sencillas el siguiente intervalo promedio entre espigas (tabla 14): Los animales jóvenes tuvieron un intervalo de 480 ± 39 mseg, los animales con 18 meses tuvieron un intervalo entre espigas de 711 ± 77 mseg, en los animales con 20 meses el intervalo fue de 1215 ± 72 mseg, en el grupo de 22-24 meses de edad tuvimos un intervalo de 895 ± 24 mseg y finalmente el grupo de animales con transplante tuvieron un intervalo entre espigas de 514 ± 107 mseg. Las diferencias fueron significativas cuando menos a $P < 0.05$ y la ANOVA dio una $F = 3.62$ (g.l. = 4) significativa a un 5%.

g).- Frecuencia de disparo entre células en ráfagas

Analizando sólo las células que disparan en ráfagas encontramos que en los animales jóvenes estas células tienen una frecuencia de disparo promedio de 5.02 ± 1.14 espigas/seg, en los animales con 18 meses las células en ráfaga disparan a una frecuencia de 3.60 ± 1.56 espigas/seg, en el grupo de 20 meses la frecuencia de estas células es de 1.40 ± 0.35 espigas/seg, en el grupo de 22-24 meses de edad tienen una frecuencia de 2.23 ± 37

TABLA 14.- FRECUENCIA DE DISPARO E INTERVALO ENTRE ESPIGAS SENCILLAS.

EDAD (MESES)	n	FREC. DISPARO (X ± E.S.)	INTERVALO ENTRE ESPIGAS (X ± E.S.) MSEG
3	14	2.80 ± 0.48	480 ± 39
18	11	1.35 ± 0.36 *	711 ± 77 *
20	10	1.17 ± 0.14 *	1215 ± 72 *
22-24	14	1.12 ± 0.36 *	895 ± 24 *
TRANSP.	21	1.84 ± 0.23	514 ± 107

* p < 0.05 con respecto al control.

ANOVA F - 5.23 (g.l. - 71.4) sig. 1%.

ANOVA F - 3.62 (g.l. - 4) sig. 5%.

espigas/seg y finalmente en el grupo de animales con transplante la frecuencia es de 4.54 ± 57 espigas/seg. En ningún caso la disminución es significativa con respecto al control, ni con la prueba de t ni con la ANOVA que dio una $F = 1.27$ (g.l. = 29,4), (tabla 15).

h).- Intervalo entre ráfagas.

El intervalo promedio entre ráfagas, en aquellas neuronas previamente clasificadas como células en ráfaga, para los animales jóvenes fue de 201 ± 82 mseg, para el grupo de animales con 18 meses el intervalo fue de 257 ± 127 mseg, para las neuronas de animales con 20 meses fue de 638 ± 146 mseg, el intervalo en el grupo de 22-24 meses fue de 402 ± 52 mseg y finalmente en los animales con transplante el intervalo fue de 206 ± 32 mseg (Tabla 15). En este análisis se encontraron diferencias significativas entre los grupos de animales viejos y el grupo control con una $P < 0.001$. La ANOVA dio una $F = 15.53$ (g.l. = 4) siendo significativa al 1%, (tabla 15)..

i).- Duración del potencial de acción.

No existen diferencias en la duración del potencial de acción entre los diferentes grupos de animales estudiados. Para el grupo de animales de 3 meses de edad tenemos una duración de 3.04 ± 0.31 mseg, para los animales con 18 meses de edad la duración promedio fue de 3.12 ± 0.31 mseg, para el grupo con 20 meses de edad la duración fue de 3.87 ± 0.29 mseg, para los animales con 22-24 meses de edad la duración promedio fue de 3.0 ± 0.18 mseg y finalmente los animales con transplante adrenal

TABLA 15. FRECUENCIA DE DISPARO E INTERVALO ENTRE ESPIGAS CELULAS EN RAFAGA.

EDAD (MESES)	n	FREC. DISPARO (X ± E.S.) ESPIGAS/SEG	INTERVALO ENTRE ESPIGAS (X ± E.S.) MSEG
3	10	5.02 ± 1.14	201 ± 82
18	9	3.60 ± 1.56	257 ± 127
20	6	1.40 ± 0.35 ±	638 ± 146 *
22-24	4	2.23 ± 0.37	402 ± 52
TRANSP.	7	4.54 ± 0.57	206 ± 32

± p < 0.01 con respecto al grupo transp.

* p < 0.001 con respecto al control.

ANOVA F = 15.53 (g.l. -4) sig. 1%.

fetal tuvieron una duración promedio de 3.12 ± 0.32 mseg.

j).- Duración de las ráfagas.

En aquellas células clasificadas como neuronas con disparo en ráfagas la duración promedio de la ráfaga fue la siguiente: el grupo de 3 meses tuvo una duración promedio de 234 ± 98 mseg. el grupo de 18 meses 217 ± 58 mseg los animales con 20 meses tuvieron una duración de ráfagas de 180 ± 20 mseg. en el grupo de 22-24 meses fue de 112 ± 66 mseg y en el grupo con transplante fue de 265 ± 76 mseg. En el grupo de animales con transplante se observa una recuperación (Tabla 16). La ANOVA dio una $F = 3.3$ (g.l. 4,29) que no es significativa.

k).- Distribución de frecuencias de disparo.

Estudiando la distribución de frecuencias se encontró que los animales viejos presentan un mayor número de células que disparan a bajas frecuencias (0-3 Hz) (Fig.5) Realizando una prueba de chi-cuadrada esta diferencia resultó significativa con un valor de X^2 de 36 y una $P < 0.01$. En las frecuencias intermedias que son de 3-6 Hz la distribución entre todos los grupos es parecida. Sin embargo en los valores de frecuencias de 6-10 Hz se encontraron algunas neuronas en los animales de 3 y 18 meses de edad pero ninguna célula perteneciente en grupos de 20, 22-24 meses de edad y tampoco ninguna en el grupo con transplante.

Figura 5.- Distribución de frecuencias de disparo.

En los valores de 0 - 3 Hz existe una diferencia significativa entre los animales con 20 y 22-24 meses de edad y el grupo control. Como se puede apreciar existe un mayor porcentaje de células de animales viejos que desaparean en el rango de frecuencias bajas. En el rango de 6 - 10 Hz prácticamente no encontramos células de animales viejos.

* $P < 0.01$ con respecto al control (grupo de 3 meses de edad).



% de Células Registradas

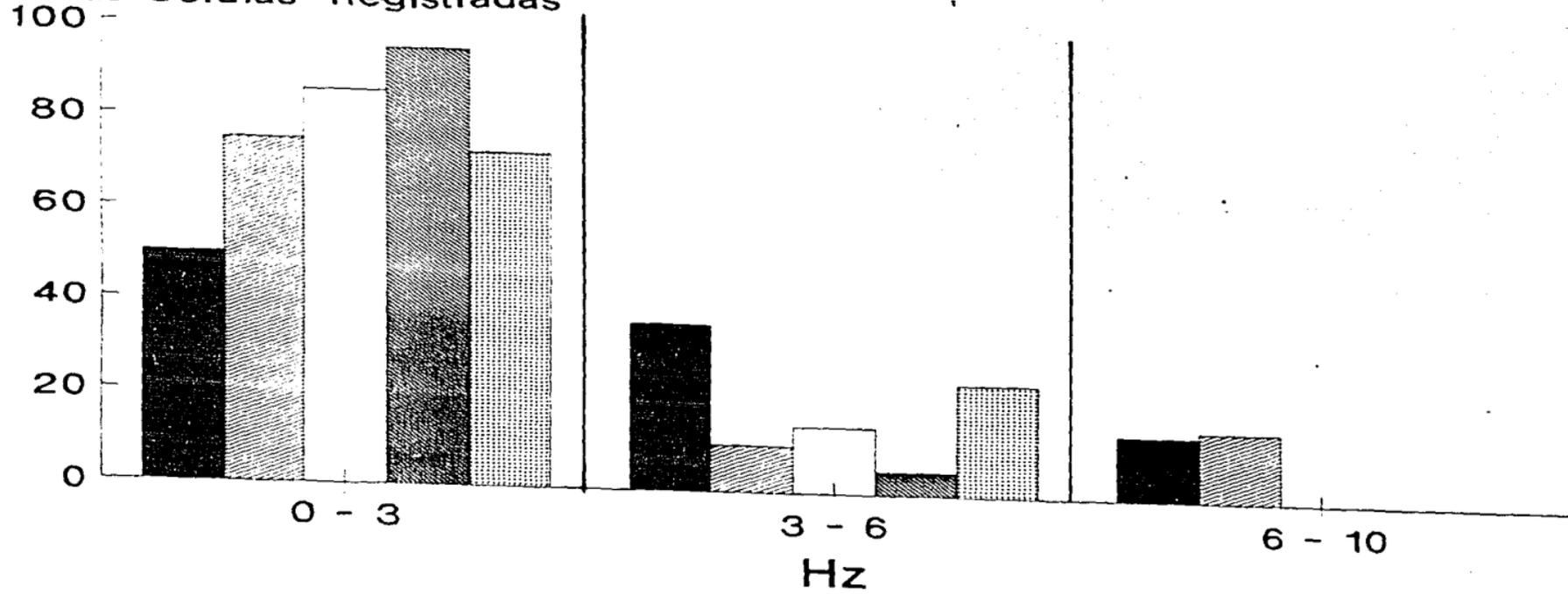


TABLA 16.- ANALISIS DE LAS CELULAS QUEDISPARAN EN RAFAGAS.

EDAD MESES	INTERVALO ENTRE RAFAGAS (X ± E.S.) MSEG	DURACION RAFAGAS (X ± E.S.) MSEG
3	40 ± 13	234 ± 98
18	66 ± 20	217 ± 58
20	80 ± 21	180 ± 20
22-24	50 ± 14	112 ± 66 & o ±
TRANSP.	23 ± 02 * &	265 ± 76

* p < 0.01 con respecto al grupo de 18 M y 20 M.

& p < 0.05 con respecto al grupo 22-24 M.

ANOVA f = 15.53 (g.l. = 4.28) sig. 1%.

\$ p < 0.05 con respecto al control.

o p < 0.05 con respecto al grupo 18 M.

± p < 0.001 con respecto al grupo transp.

ANOVA F = 3.3 (g.l. = 4.29) sig. 5%.

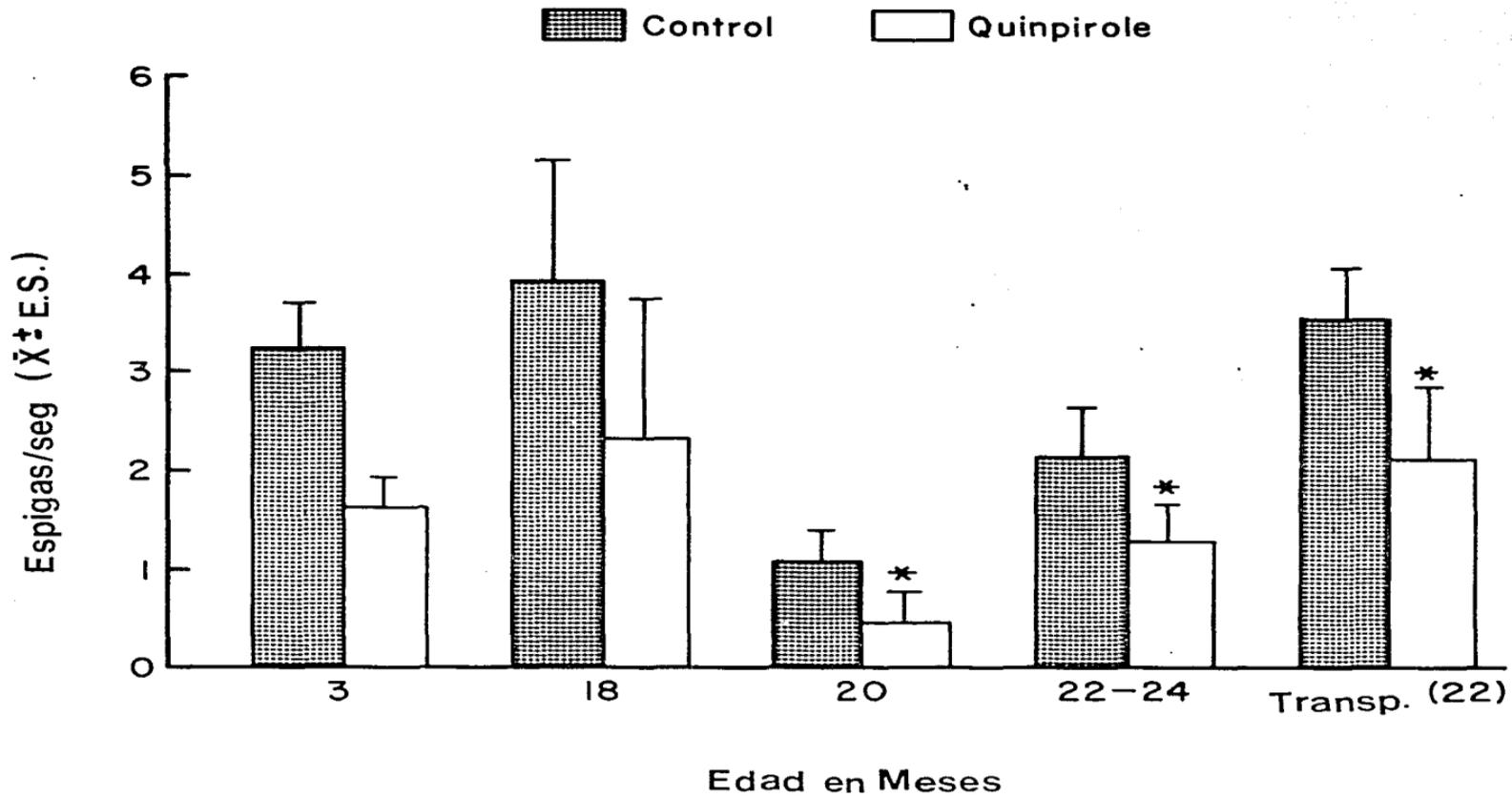
1).- Efecto del quinpirole.

El agonista dopaminérgico D2 se aplicó intraperitonealmente después de haber obtenido un registro basal de la frecuencia de disparo de la neurona de cuando menos 10 minutos. En todos los grupos de edad y en los animales con transplante, el quinpirole disminuyó la frecuencia de disparo (Fig 6). El único grupo que no presentó una disminución estadísticamente significativa correspondió a los animales con 18 meses. Los valores obtenidos fueron los siguientes: los animales con 3 meses de edad tuvieron una frecuencia promedio de disparo control de 3.13 ± 0.51 espigas/seg ($X \pm E.S.$) y después de la aplicación del quinpirole la frecuencia disminuyó a 1.67 ± 0.29 espigas/seg. El grupo de 18 meses tenía una frecuencia control de 3.93 ± 1.98 espigas/seg y después de la inyección del fármaco cambió a 2.32 ± 1.32 espigas/seg, este cambio no fue significativo y la muestra fue de 6 células. El grupo de 20 meses tuvo una frecuencia control de 1.26 ± 0.26 espigas/seg y después de la administración del agonista cambió a 0.57 ± 0.29 espigas/seg siendo 6 el número de células probadas. Los animales del grupo de 22-24 meses de edad presentaron una frecuencia promedio de 1.95 ± 0.45 espigas/seg y cuando se aplicó el quinpirole disminuyó a 1.18 ± 0.33 espigas/seg, siendo 5 las neuronas probadas en este caso. Finalmente el grupo de animales transplantados tuvo una frecuencia control de 3.15 ± 0.75 espigas/seg y después de la administración del quinpirole cambió a 1.59 ± 0.52 espigas/seg. Aquí sólo se probaron 4 células. La prueba estadística usada en este caso fue una t pareada. Hay que aclarar que las frecuencias basales de las células presentadas aquí están contempladas dentro

Figura 6.- Efecto de quinpirole.

Como se puede apreciar, existe una disminución en la frecuencia de disparo de las células cuando se aplica el quinpirole. Esta disminución se presenta en todos los grupos, aunque parece ser menos marcada en los animales con 20 y 22-24 meses de edad.

* $P < 0.05$.



de los datos de las frecuencias de disparo presentadas en el inciso a.

m).- Histología.

De las 247 células registradas en los diferentes grupos un total de 168 se encontraron dentro de la SNC (Fig.2) y correspondían a las características reportadas por Grace y Bunney (1983). Se registraron células en prácticamente todos los planos en donde se localiza la SNC de acuerdo al Atlas de Paxinos. Para poder realizar una comparación de los sitios de registro entre los diferentes grupos de animales dividimos a las neuronas registradas en tres grandes grupos de acuerdo a su localización en los diferentes niveles del eje antero-posterior. Los grupos fueron denominados de la siguiente forma: anterior que correspondió al A-P 4.80, medio que correspondió al A-P 5.2 y finalmente posterior correspondiente al A-P 5.6 mm y que incluía neuronas registradas en el A-P 5.3 mm, A-P 5.8 mm, A-P 6.04 mm y A-P 6.30 mm (ver Fig. 2). Hay que notar que para el grupo de animales con 18 meses de edad no se registró ninguna neurona en el plano anterior y en el grupo de animales con 20 meses de edad no se registró ninguna célula que se encontrara en el plano posterior. Utilizando la inmunohistoquímica se pudo comprobar la supervivencia de los trasplantes. Es importante señalar que la técnica de los trasplantes no es sencilla y que tuvimos un buen número de animales en los cuales los trasplantes no pegaron. Tuvimos pocos animales exitosos y en estos se comprobó la existencia de tinción inmunoreactiva para la TH en el trasplante además de observarse células en el trasplante que

Figura 2.- Distribución de los sitios de registro.

Se registraron células en prácticamente todas las regiones de la sustancia negra compacta y fuera de ella principalmente en las regiones correspondientes a la SNR, el lemnisco medio y el área ventral tegmental. De 247 células registradas 168 correspondieron por su frecuencia de disparo, forma de la espiga y duración del potencial de acción a las identificadas por Grace y Bunney. Para fines comparativos las células se agruparon en 3 grandes divisiones de acuerdo a su distribución en los diferentes planos del Atlas de Paxinos. Estos grandes grupos fueron: Anterior que correspondió al A-P 4.8 mm, Medio con un A-P de 5.2 mm y Posterior con un A-P de 5.6 mm y que incluyó las células localizadas en los planos A-P 5.8 mm, A-P 6.04 mm y A-P 6.30 mm.

A-P 4.22 mm

5.20 mm

5.60 mm

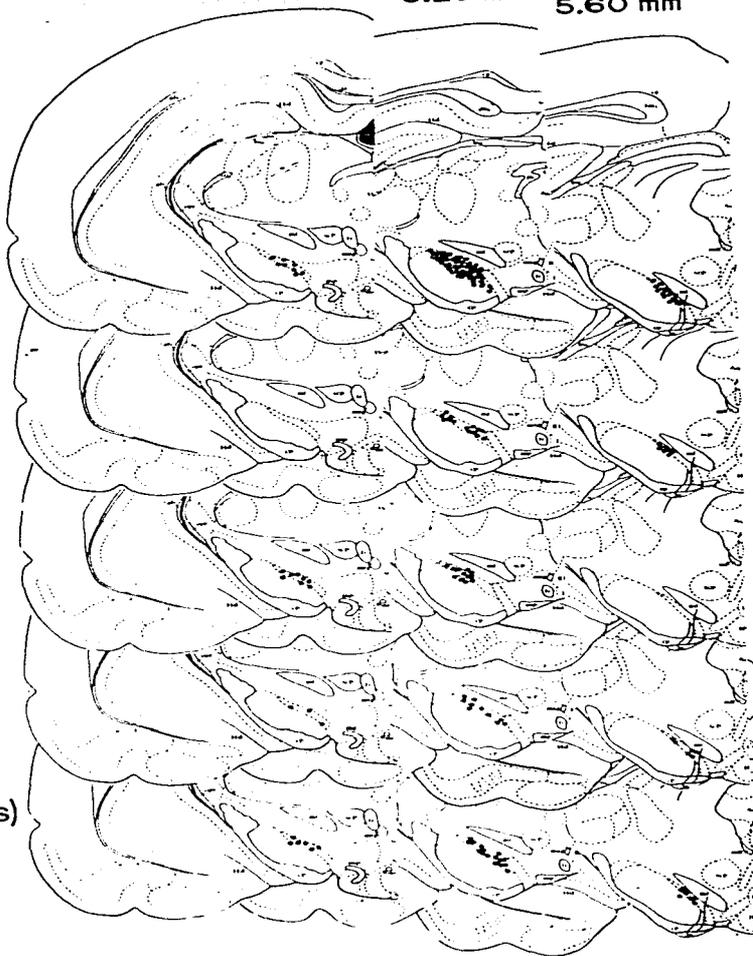
3 Mese

18 Mese

20 Mese

22-24
Mese

Transp.
(22 Mese)



morfológicamente parecían normales.

VI.- DISCUSION

Antes de comenzar la discusión de este trabajo es importante señalar que los datos obtenidos con los trasplantes son difíciles de explicar. Esto es debido a que, a pesar de que existen muchas hipótesis de como trabajan y pueden reestablecer funciones los trasplantes, estas hipótesis no son muy claras en todos los casos. Más aún si pensamos no sólo en el sistema de estudio aislado, sino en las repercusiones del trasplante sobre todo un circuito complejo, como en el caso de los G.B.

Las células de la SNC han sido ampliamente estudiadas desde varios puntos de vista, pues forman parte principal del sistema dopaminérgico de los ganglios basales el cuál está íntimamente relacionado con una serie de síndromes y enfermedades como son la enfermedad de Parkinson y las córeas.

Desde el punto de vista electrofisiológico estas células han sido muy estudiadas, como ya se indico en la introducción, en la sección de electrofisiología, sin embargo todos estos estudios se han realizado en células de animales jóvenes. A la fecha, sólo existe un trabajo que aborda el problema del comportamiento electrofisiológico de neuronas de la SNC en animales viejos (Freeman y col., 1989)

En este trabajo, que es el segundo en su género, se reporta una disminución en la frecuencia de disparo de las células de SNC en animales viejos. Esta disminución puede señalar alteraciones en las células de la SNC. Estas alteraciones pueden ser desde

modificaciones en la homeostasis del Ca^{2+} , disminución en la permeabilidad del ión a través de las membranas (Gibson et al., 1987; Smith, 1987), aumento en la fragilidad de las membranas (Bondy et al., 1989), cambios en la liberación del neurotransmisor (Smith, 1987), alteraciones en las propiedades de membranas, como una disminución en la excitabilidad eléctrica (Scott et al., 1988) o alteraciones en las proteínas activadas por Ca^{2+} que están relacionadas con el recambio y función del citoesqueleto (Etienne et al., 1987).

En este trabajo reportamos alteraciones en algunas propiedades de las neuronas de la SNC que podrían interpretarse como una disminución en la eficacia de las células de animales viejos, puesto que encontramos una disminución en el número de células que disparan en ráfagas, una disminución en la frecuencia de disparo y un aumento en el intervalo entre espigas.

Si analizamos estos datos a la luz del artículo de Gonnou (1988) que reporta que la liberación de dopamina en el estriado está directamente relacionada con la forma de disparo, esto es, si la célula dispara en ráfagas se libera más dopamina, se podría postular que en los animales viejos existe una menor cantidad de neurotransmisor liberado en el estriado en comparación con los animales jóvenes.

En apoyo a esto se pueden mencionar los datos que muestran que para la liberación de dopamina se necesita que el Ca^{2+} entre a través de canales de Ca^{2+} sensitivos a voltaje (Blaustein et al., 1975) y se ha podido documentar el hecho de que la liberación de dopamina estimulada por K^+ es menor en animales

viejos que en jóvenes, y esta disminución en la liberación depende de la concentración de Ca^{2+} (Raitieri y col., 1986). Aunado a este hecho se ha mostrado que altas concentraciones de Ca^{2+} extracelular disminuyen los déficits relacionados con la edad (Raitieri y col., 1986).

Quizá estas alteraciones en la homeostásis al Ca^{2+} estén relacionadas con la disminución en el número de células que pueden disparar en ráfagas, lo cual se traduce finalmente en una menor liberación de dopamina en el estriado. Esto se puede proponer partiendo del hecho de que en las células de la SNC el Ca^{2+} es preponderante para la generación de la espiga somatodendrítica y la posthiperpolarización.

Esto se podría postular partiendo del hecho de que en la literatura se documenta bastante la disminución en la liberación de dopamina en el estriado de animales viejos. Es interesante señalar aquí que los trabajos de Romo et al., (1986) muestran que el impulso eléctrico es responsable de aproximadamente un 30% de la liberación de dopamina en el estriado. Esto indicaría que la propuesta disminución reportada durante el envejecimiento, aunque importante podría ser no muy grande en cuanto al porcentaje total de liberación de dopamina en el estriado.

Gregerson y Selmanoff (1990) muestran que las terminales nerviosas nigro-estriatales presentan una respuesta disminuida a estímulos depolarizantes con la edad, alcanzando su mayor significación en ratas de 19-21 meses de edad. Estos autores proponen que cambios en la composición de la membrana y en el acoplamiento estímulo-secreción pueden estar ocurriendo en animales viejos, proponiendo que la liberación del

neurotransmisor y las funciones asociadas a canales iónicos se vean afectadas.

En base a estos datos se podría considerar que la disminución en la liberación de dopamina en el estriado de animales viejos se debe a una alteración en la permeabilidad al Ca^{2+} .

Partiendo del hecho de la disminución en la liberación de dopamina en el estriado, cabría esperar que se presentara el fenómeno de supersensibilidad para los receptores dopaminérgicos en el caudado. Este punto es controversial y ya fué tratado en la introducción.

Nosotros encontramos que aplicando intraperitonealmente un agonista de receptores D2 como es el quinpirole, la frecuencia promedio de disparo disminuye tanto en animales jóvenes como viejos, no mostrando una respuesta diferenciada relacionada con la edad. Esto podría sugerir que en las ratas Wistar no hay cambios apreciables en la afinidad o el número de receptores D2, aunque otra posibilidad es que la magnitud de la respuesta si este disminuida en los animales viejos. Hay que señalar que Freeman y col. tampoco encuentran una respuesta diferencial en los animales viejos aplicando el fármaco por vía i.v.

Sorprendentemente en el único artículo publicado hasta la fecha acerca de cambios electrofisiológicos en las células de SNC de ratas viejas (Freeman y col., 1989) no se reportan alteraciones en la frecuencia promedio de disparo, y decimos sorprendentemente porque no solamente los datos que hemos

revisado muestran una disminución en la cantidad de dopamina liberada sino que otros estudios reportan la existencia de diferencias significativas entre animales jóvenes y viejos en una variedad de sitios del sistema nervioso central. Como un ejemplo de esto están los trabajos de Levin y col. (1987) en los cuales se muestra una disminución en la excitabilidad de células del caudado en gatos viejos. También Cepeda y col. (1989) utilizando técnicas de registro intracelular y registrando en el estriado de ratas viejas muestran una disminución en la excitabilidad de estas neuronas. La disminución en la actividad espontánea de las neuronas también se ha reportado en cerebelo (Rogers y col., 1980) e hipocampo (Decker, 1987).

Sin embargo para tratar de aclarar la diferencia entre los resultados obtenidos por Freeman y col. y los que se reportan en esta tesis podríamos citar la diferencia en la cepa de ratas usadas. Freeman utiliza ratas Fisher 344 y en este trabajo se usaron ratas Wistar. Existe un estudio de Morgan y Finch (1988) en el cual se documentan diferencias importantes entre cepas y especies de animales viejos, sobre todo a nivel del sistema dopaminérgico, por ejemplo en el núcleo caudado se reportan cambios en los niveles de receptores estritales de dopamina que van de ningún cambio en ratas F344 a una disminución del 55% en ratas Wistar. También presentan datos del cambio en la densidad de receptores tipo D1 y oscilan de entre ningún cambio en ratas Sprague-Dawley a una disminución del 30% en la cepa GRC. También la actividad de la tirosina hidroxilasa presenta cambios de acuerdo a la cepa. En la revisión ya mencionada se presentan

datos de una disminución del 30% de la actividad de la TH en ratas Wistar a una disminución del 20% en la cepa F344. Otro punto importante es el hecho de que Freeman utiliza a sus animales en un sólo grupo juntando ratas de 24-28 meses, sin separar en grupos pequeños de 24 meses, 25 meses etc. Aquí vale la pena señalar que algunos autores indican que la disminución más drástica en la concentración de dopamina ocurre en la edad adulta media y no en la edad avanzada y quizá nuestros animales se encuentran precisamente en este rango de edad en el cual es más notoria la pérdida de dopamina. Otro hecho importante de recalcar es que el fenómeno del envejecimiento es un proceso individual y no todos los sujetos ni todas las neuronas se ven igualmente afectadas.

Como se puede apreciar en la sección de resultados de este trabajo, el trasplante de médula adrenal fetal al estriado de ratas viejas intactas revierte parcialmente la disminución en la frecuencia de disparo relacionada con la edad. Sería muy largo enumerar la cantidad de artículos en los cuales se muestran mejorías en algunas variables del comportamiento motor o cognocitivo después de los trasplantes. En cuanto a la eficacia de los trasplantes en animales viejos, realmente existen pocos trabajos. En uno de ellos Azmitia y col. (1981) examinan el crecimiento de fibras serotoninérgicas de trasplantes fetales en el hipocampo de ratones adultos y viejos, mostrando que en ambos casos el implante sobrevive y envía procesos serotoninérgicos al tejido huésped. Sladek et al (1982) implantaron neuronas de hipotálamo fetal en el tercer ventrículo de ratas adultas y viejas no encontrando diferencias debido a la edad del receptor.

Matsumoto y col. (1984) reportaron que los trasplantes de hipotálamo medial de rata recién nacida sobreviven cuando son implantados en el tercer ventrículo de ratas Wistar viejas. En otro trabajo de Sladek y col. (1984) se mostró que los trasplantes fetales de locus ceruleus sobreviven y extienden sus axones cuando se implantan en el tercer ventrículo de ratas viejas.

Gage y Bjorklund reportaron en 1983 que trasplantes de células en suspensión del mesencéfalo ventral y área de la banda diagonal de fetos de ratas sobreviven exitosamente cuando se colocan en el estriado intacto y el hipocampo de ratas viejas de la misma cepa.

En cuanto a los efectos funcionales de estos trasplantes, Sladek y col. (1984) reportan que el trasplante de locus ceruleus de fetos de ratas puesto en el tercer ventrículo de ratas viejas mejora la retención de las tareas de prevención pasiva. Gage y Bjorklund (1983, 1984, 1985) llevaron a cabo una serie de experimentos que mostraron que los trasplantes intracerebrales mejoran la coordinación motora y los déficits en el aprendizaje observados en ratas viejas controles.

Desde el punto de vista electrofisiológico es realmente poco lo que se ha hecho. Dentro de estos trabajos y circunscribiendonos al sistema de ganglios basales está el estudio de Arbutthnott y col. (1984) en el cual utilizando registro intracelular encuentran evidencia de que las neuronas de un trasplante sólido puesto en la cavidad cortical sobre el estriado pueden estar influenciadas por el tejido huesped.

Sin embargo, el cómo funcionan los trasplantes no está aún muy claro. Existen diversas hipótesis. Gage y Bjorklund postulan que en sus experimentos al menos parcialmente se reestablece la neurotransmisión en el estriado y el hipocampo. Sus estudios con análisis bioquímico de síntesis y metabolismo de dopamina (1982, 1983) y diálisis in vivo (1985) indican que las neuronas de dopamina implantadas pueden mantener una actividad espontánea suficientemente alta aún en ausencia de aferentes. También Freed y col. (1983), Perlow y col. (1980) y Gash y col. (1980) proponen que los efectos funcionales de los trasplantes pueden estar basados en la liberación difusa de un neurotransmisor activo o un péptido al líquido cefalorraquídeo y el tejido adyacente. En algunos casos también se propone que la reinervación del estriado denervado sea la causa de la mejoría (Dunnet et al., 1983). Los datos disponibles a la fecha indican que las neuronas de procedencia embrionaria implantadas en algunos sitios del sistema nervioso central pueden sustituir en algún grado las vías aferentes a la región denervada en ratas adultas. Esto indicaría la plasticidad existente en el SNC para incorporar nuevos elementos dentro de los circuitos ya establecidos. Obviamente existen limitaciones en cuanto al tipo de neuronas o subsistemas funcionales que pueden ser exitosamente influenciados por los trasplantes. La recuperación funcional de los trasplantes se ha mostrado exitosa preferentemente en neuronas que normalmente parecen actuar como sistemas reguladores tónicos. Las células mesencefálicas dopaminérgicas son normalmente catalogadas como un sistema modulador que tónicamente marca la

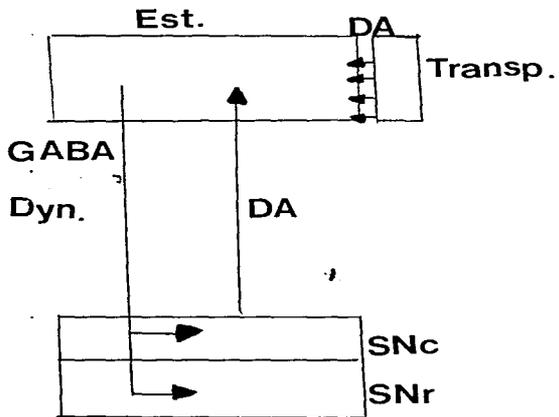
actividad de la maquinaria neostriatal. La alteración del mecanismo de control dopaminérgico resulta en un severo impedimento de las funciones estriatales. La recuperación funcional que se observa después de reinstalar la transmisión dopaminérgica, ya sea con drogas o con trasplantes, podría interpretarse como la reactivación de una maquinaria neural que estaba malfunctionando pero intacta.

En los resultados de esta tesis se puede observar una tendencia a la recuperación de la frecuencia promedio de disparo y el intervalo entre espigas en animales que recibieron el trasplante. Estos resultados se pueden explicar pensando en que el tejido implantado está liberando alguna sustancia que reestablece parcialmente la cantidad de dopamina perdida en el estriado y por lo tanto reestablece la inhibición perdida (ver esquema 1) sugiriendo que de alguna manera se reestablecen algunas de las condiciones que existen en los animales jóvenes.

Esto es, nuestra hipótesis es que al disminuir la cantidad de dopamina en el estriado de animales viejos debido ya sea a un alteración en el Ca^{2+} de las neuronas de la SNC o a alteraciones en las propiedades de membrana de estas células, se produciría una pérdida en la inhibición que existe en el estriado, esto produciría ya sea las que células colinérgicas y/o gabaérgicas del estriado que se encontraban inhibidas por la dopamina, ahora se exciten y que directa o indirectamente se libere más GABA sobre las células de las SNC. Existen datos electrofisiológicos (Grace y Bunney, 1979) que muestran que alterando la frecuencia de disparo en la SNR con muscimol (agonista gabaérgico) se altera directamente la frecuencia de disparo en la SNC. Si esto funciona

Esquema 1.- Esquema propuesto para explicar el efecto del trasplante sobre la actividad de las células de la SNC. Durante el envejecimiento las células dopaminérgicas de la SNC dispararían menos en forma de ráfaga y disminuiría la liberación de dopamina en el estriado, consecuentemente la salida gabaérgica que se conecta con las terminales dopaminérgicas perdería algo de la inhibición normal y se excitaría liberando más GABA en la SNR y la SNC, lo que llevaría a una disminución en la frecuencia de disparo de las células de SNC. El trasplante estaría liberando sustancias que de alguna manera reestablecerían la inhibición perdida en el estriado y consecuentemente la función sería mas semejante a un animal joven.

Est. - estriado
DA - dopamina
Dyn - dinorfina
SNC - Substancia negra compacta
SNr - Substancia negra reticulada
Transp. - trasplante



así, al liberarse más GABA en la SNR se disminuiría la frecuencia de disparo en SNC, lo cual coincide con los resultados que se encuentran en animales viejos en este trabajo.

El tejido adrenal fetal implantado estaría reestableciendo la inhibición perdida en el estriado y esto resultaría de alguna manera en una disminución en la cantidad de GABA liberado en la SNR y por lo tanto disminuye la inhibición sufrida por las células dopaminérgicas lo que les permitiría aumentar su frecuencia de disparo a niveles semejantes al control, tal como se observa en nuestros resultados. Los resultados también se pueden explicar postulando que el trasplante está afectando, entre otros sitios, a los estriosomes que envía proyecciones a la SNC, reestableciendo así las condiciones existentes en los animales jóvenes.

Esto de alguna manera se puede comprobar con los resultados que muestran que aunque se recupera parcialmente la frecuencia de disparo, el número de células que disparan en ráfagas, y los intervalos entre ráfagas no se modifican. Esto es, las células de la SNC disparan con valores más semejantes a los controles, sin embargo sus membranas y la homeostásis al Ca^{++} en la SNC no se modifican con el trasplante y por lo tanto no se pueden alterar funciones que dependen de estas membranas.

Tomando en cuenta los datos presentados en la introducción acerca del funcionamiento de los G.B. en grandes circuitos se podría postular una segunda hipótesis que no sería excluyente de la ya presentada sino que la tomaría para explicar problemas funcionales en sujetos viejos desde un punto de vista más amplio.

Se sabe por estudios neurofisiológicos que las neuronas que forman parte del circuito motor descrito en la introducción están relacionadas con movimientos activos y pasivos de ciertas regiones del cuerpo (Georgopoulos et al., 1983; Chrutcher et al., 1984; Liles, 1985). Esto se complementa con la información que indica que en años recientes ha surgido una visión consistente de que la dopamina ejerce una acción moduladora por disminuir la actividad tónica de las neuronas del estriado y disminuir la respuesta de estas células a la estimulación cortical, periférica o a la administración de glutamato (Johnson et al., 1983; Hirata et al., 1984; Abercrombie et al., 1985; Mercuri et al., 1985). Los registros intracelulares sugieren que la dopamina actúa disminuyendo la amplitud de los epsp's e ipsp's producidos por la estimulación cortical o la intoforesis de glutámico y GABA (Mercuri et al., 1985). La pérdida de la acción inhibitoria de la dopamina por una disminución en la liberación durante el envejecimiento puede producir un aumento en la actividad tónica de las neuronas del estriado y aumentar la respuesta a entradas extrínsecas.

Esto podría sugerir que la disminución en la liberación de dopamina podría llevar a una actividad tónica y fásica alterada dentro del estriado y el globo pálido y estos cambios serían transmitidos a la corteza cerebral a través del circuito G.B.-tálamo-corteza. El trasplante colocado en el estriado reestablecería la pérdida en la disminución de dopamina y con esto se podrían reestablecer parcialmente la actividad tónica de las neuronas del estriado y la respuesta del circuito a información extrínseca e intrínseca.

Esta hipótesis estaría respaldada por los estudios realizados en primates con el modelo de MPTP.

Esta claro que un cambio en la actividad neuronal dentro de los G.B. puede afectar funciones corticales. Además teniendo en cuenta el modelo de circuitos integrados presentado en la introducción se podría postular que los deficits que se presentan tanto en sujetos ancianos como en enfermos de Parkinson afectan también a los circuitos oculomotor, explicando así los deficits encontrados en pacientes viejos y deficits cognocitivos que reflejan alteraciones en la corteza prefrontal y de asociación.

Los datos presentados en este trabajo muestran que los transplantes pueden recuperar algunas funciones electrofisiológicas en las que se implican vías polisinápticas y que utilizan diferentes neurotransmisores.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abercrombie, E.D. and Jacobs, B. L. .- Dopaminergic modulation of sensory responses of striatal neurons: single unit studies.- Brain Res. 358: 27-33.- 1985.
- 2.- Afsharpour, S., Kita, H., Penney, G.R. and Kitai, S.T. .- Glutamic acid decarboxylase, substance P and Leu-enkephalin immunoreactives neurons in the neostriatum that project to the globus pallidus and substantia nigra.- Soc. Neurosc. Abstr. 11: 362.- 1985.
- 3.- Albin, R.L., Young, A.B. and Penney, J.B. .- The functional anatomy of basal ganglia disorders.- TINS 12: 266-375.- 1989.
- 4.- Alexander, G.E., DeLong, M.R. and Strick, P.L. .- Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex.- Annu. Rev. Neurosc. 9: 357-381.- 1986.
- 5.- Alexander, G.E. .- Selective neuronal discharge in monkey putamen reflects intended direction of planned limb movements.- Exp. Brain Res. 67: 623-634.- 1987.
- 6.- Alexander, G.E. and Crutcher, M.D. .- Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing.- TINS 13N 266-271.-1990.
- 7.- Allen, S.J., Benton, S.J., Goodhardt, M.J., Haan, E.A, Sims, N.R., Smith, C.T., Spillane, J.A., Bowen, D.M. and Davison, A.M. Biochemical evidence of selective nerve cell changes in the normal aging human rat brain.- J. Neurochem. 41: 256-265.- 1983.
- 8.- Algeri, S., Calderini, G., Toffano, G. and Ponzio, F.- Neurotransmitter alterations in aging rats.- Aging of the brain Ed. by Samuel et al.- Raven Press N.Y. pp 227-243.- 1983.

- 9.- Anden, N.E., Fuxe, K., Hamberger, B. and Kokfelt, T. .- A quantitative study of the nigro-neostriatal dopamine neuron system in the rat.- *Acta Physiol. Scand.* 67: 306-312.- 1966.
- 10.- Arbilla, S. and Langer, S. .- Stereoselectivity of presynaptic autoreceptors modulating dopamine release.- *Eur. J. Pharmacol.* 76: 345-351.- 1981.
- 11.- Araki, T. and Endo, K. .- Short latency of EPSP's of pyramidal tract cells evoked by stimulation of the centrum medianum-parafascicular complex and the nucleus ventralis anterior of the thalamus.- *Brain Res.* 113: 405-410.- 1976.
- 12.- Arbuthnott, G.W., Walker, R.H., Whale, D. and Wrieth, A. .- Further evidence for a pallidostriatal pathway in rat brain.- *Physiol. Soc. Abstr.* 33.- 1982.
- 13.- Arbuthnott, G., Dunnet, S.B. and MacLeod, N. .- Electrophysiological recording from nigral transplants in the rat.- *J. Physiol.* 360:32.- 1984.
- 14.- Austin, J.H., Connole, H.E., Doubravka, K and Collins, J. .- Reduced norepinephrine, dopamine, and cyclic AMP in rat brain with advanced age.- *Age* 1: 121-124.- 1978.
- 15.- Azmitia, E.C. and Segal, M. .- An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat.- *J. Comp. Neurol.* 179: 641-668.- 1978.
- 16.- Azmitia, E.C., Perlow, W.J., Brennan, M.J. and Lauder, J.M. Fetal raphe and hippocampal transplants into adult and aged C 57 BL/6N mice: A preliminary immunocytochemical study.- *Brain Res Bull.* 7: 703-710.- 1981.

- 17.- Battaglia, G., Norman, A. and Creese, I. .- Age-related differential recovery rat striatal D-1 dopamine receptors following irreversible inactivation.- Eur. J. Pharmacol. 145: 281-290.-1988.
- 18.- Beckstead, R.M. .-The thalamostriatal projection in the cat.- J.Comp. Neurol. 235: 277-300.- 1984.
- 19.- Beckstead, R.M. and Cruz, C.J. .- Striatal axons to the globus pallidus, entopeduncular nucleus and substantia nigra come mainly from separate cell population in cat.- Neurosc. 19: 147-158.- 1986.
- 20.- Blaustein, M. P. and Osborn, C. J. .- The influence of sodium in pinched-off nerve terminals in vitro. J. Physiol. 247: 657-686.- 1975.
- 21.- Bloom, F.E., Costa, E., Salmoiraghi, G.C. .- Anesthesia and the responsiveness of individual neurons of the caudate nuclei to acetylcholine, norepinephrine and dopamine administration by microelectrophoresis.- J. Pharmacol. Exp. Ther. 150: 244-252.- 1965.
- 22.- Bolam, J.P., Izzo, P.N. and Graybiel, A.M. .- Cellular substrate of the histochemically defined striosome/matrix system of the caudate nucleus: a combined Golgi and immunocytochemical study in cat and ferret.- Neurosc. 24: 853-875.- 1988.
- 31.- Bondy, S.C., Martin, J., Halsall, L. and McKee, M. .- Increased fragility of neuronal membranes with aging.- Exp. Neurol. 103: 61 - 63.- 1989.
- 24.- Bugiani, O., Salvarini, S., Perdelli, F., Mancardi, G. and Leonardi, A. .- Nerve cell loss with aging in the putamen.- Eur. Neurol. 17: 286-291.- 1978.

- 25.- Bunney, B.S., Walters, J.R., Roth, R.H. and Aghajanian, G.K. Dopaminergic neurons: Effect of antipsychotics drugs and amphetamine on single cell activity.- J. Pharmac. Exp. Ther. 185: 560-571.- 1973.
- 26.- Bunney, B.S. and Aghajanian, G. K. .- The precise localization of nigral afferents in the rat determined by a retrograde tracing technique.- Brain Res. 117: 423-436.- 1976.
- 27.- Calderini, G., Bonneti, A., Aldinio, A., Savoini, G., DiPerri, B., Biggio, G. and Toffano, G.- Functional interactions between benzodiazepine and GABA recognition sites in aged rats.- Neurobiol. Aging 2: 309-313.- 1981.
- 28.- Cargana, N., Trunzo, F. and Moretti, A.- Brain catecholamine content and turnover in aging rats.- Exp. Gerontol. 20: 256-269.- 1985.
- 29.- Carlsson, A. and Winbland, B. .- Influence of age and time interval between death and autopsy on dopamine and 3-methoxytyramine levels in humans basal ganglia.- J. Neural Transm. 38: 271-276.- 1976.
- 30.- Cepeda, C., Walsh, J.P., Hull, C.D., Buchwald, N.A. and Levine, M.S. .- Intracellular neurophysiological analysis reveals alterations in excitation in striatal neurons in aged rats.- Brain Res. 494: 215-226.- 1989.
- 31.- Chalmers, A., McGeer, E.G., Wickson, V. and McGeer, P.L. .- Distribution of glutamic acid decarboxylase in the brain of various mammalian species.- Comp. Gen. Pharmacol. 1: 385-390.- 1970.

- 32.- Cheramy, A., Leviel, J. and Glowinski, J. - Dendritic release of dopamine in the substantia nigra.- Nature 289: 537-542.- 1981.
- 33.- Cheramy, A., Romo, R., Godeheu, G., Baruch, P. and Glowinski, J. - In vivo presynaptic control of dopamine release in the cat caudate nucleus-II. Facilitatory or inhibitory influence of l-glutamate.- Neurosc. 19: 1081-1090.-1986.
- 34.- Chesselet, M.F. and Graybiel, A.M. - Striatal neurons expressing somatostatin-like immunoreactivity: evidence for a peptidergic interneuronal system in the cat.- Neurosc. 17: 547-571.- 1986.
- 35.- Chesselet, M.F. and Robbins, E. - Regional differences in substance P-like immunoreactivity in the striatum correlate with levels of pre-protachykinin mRNA.- Neurosc. Lett. 96: 47-53.- 1989.
- 36.- Chiodo, L.A., Antelman, S.M., Caggiula, A.R. and Lineberry, C.G. - Sensory stimuli alter the discharge rate of dopamine neurons: Evidence for two types of DA cells in the substantia nigra.- Brain Res. 189: 544-549.- 1980.
- 37.- Chiodo, L.A. and Bunney, B.S. - Typical and atypical neuroleptics: Differential effects of chronic administration on the activity of A9 and A10 midbrain dopaminergic neurons.- J. Neurosc. 3: 1607-1619.- 1983.
- 38.- Chiodo, A. L., and Bunney, B.S. - Mesocortical DA systems: Electrophysiological characterization of pre- and postsynaptic neurons.- Clin. Neuropharmacol. 7: 70-71.- 1984.

- 39.- Chiodo, A.L. and Bunney, B.S. .- Population response of midbrain dopaminergic neurons to neuroleptics: Further studies on time course and non dopaminergics influences.- J. Neurosc. 7: 629-633.- 1987.
- 40.- Clark, D. and Chiodo, L.A. .- An electrophysiological and pharmacological characterization of identified nigrostriatal and mesoaccumbens dopamine neurons in the rat.- Synapse 2: 43-49.- 1988.
- 41.- Connor, J.D. .- Caudate nucleus neurones: Correlation of the effects of substantia nigra stimulation with iontophoretic dopamine.- J. Physiol. 208: 691-703.- 1970.
- 42.- Conrad, L.C. and Pfaff, D. W.- Autoradiographic tracing of nucleus accumbens efferents in the rat.- Brain Res. 113: 589-596.- 1976.
- 43.- Connor, J.R., Diamond, M.C. and Johnson, R.T. .- Occipital cortical morphology of the rat: alterations with age and environment.- Exp. Neurol. 68: 152-170.- 1980.
- 44.- Consolazione, A., Bentivoglio, M., Goldstein, M. and Toffano, G. .- Evidence for crossed catecholaminergic projections by combining wheat germ agglutinin horseradish peroxidase retrograde transport and tyrosine hydroxylase immunohistochemistry.- Brain Res. 338: 140-143.- 1985.
- 45.- Creese, I.- Dopamine receptors explained.- TINS 5: 40-43.- 1982.
- 46.- Creese, I., Sibley, D.R. and Leff, S.E. .- Agonist interactions with dopamine receptors: Focus on radioligand binding studies.- Fed. Proc. Amer. Soc. Exp. Biol. 43: 2779-2784.- 1984.

- 47.- Crutcher, M.D. and DeLong, M. R. .- Single cells studies of the primate putamen. I. Functional organization. Exp. Brain Res. 53: 233-243.- 1984.
- 48.- Cuello, A. C. and Iversen, L.L. .- Interactions of dopamine with other neurotransmitters in the rat substantia nigra: a possible functional role of dendritic dopamine. In: Interactions between putative neurotransmitters in the brain. Ed. by Grattini, S., Pujol, J.F. and Samanin, R.- Raven Press N.Y. 127-149.- 1978.
- 49.- Cubells, J.F. and Joseph, J.A. .- Neostriatal dopamine receptor loss and behavioral deficits in the senescent rat.- Life Sci. 206: 477-479.- 1981.
- 50.- Dahlstrom, A. and Fuxe, L. .- Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system.- Acta Physiol. Scand. 62: Suppl. 232: 1-55.- 1964.
- 51.- DeCeballos, M.L., Boyce, S., Taylor, M., Jenner, P. and Mardsen, C.D.- Age-related decreases in the concentrations of Met- and Leu-enkephalin and neurotensin in the basal ganglia of the rats.- Neurosc. Lett. 75: 113-117.- 1987.
- 52.- Decker, M.W. .- The effects of aging on hippocampal and cortical projections of the forebrain cholinergic system.- Brain Res. Review 12: 423-438.- 1987.
- 53.- Del Fiacco, M., Paxinos, G. and Cuello, C. .- Neostriatal enkephalin-immunoreactive neurons project to the globus pallidus.- Brain Res. 231: 1-17.- 1982.
- 54.- Demarest, K.T., Riegler, G.D. and Moore, K.E.- Characteristics of dopaminergic neurons in the aged male rats.- Neuroendocrinology 31:222-227.- 1980.

- 55.- Deniau, J.M., Hammond, C., Risz, A. and Feger, J. .- Electrophysiological properties of identified output neurons of the rat substantia nigra (pars compacta and pars reticulata): Evidence for the existence of branched neurons.- *Exp. Brain Res.* 32: 409-422.- 1978.
- 56.- Deniau, J. M. and Chevalier, G. .- Desinhibition as a basic process in the expression of striatal function.II. The striato-nigral influence on thalamocortical cells of the ventromedial thalamic nucleus.- *Brain Res.* 334: 227-233.- 1985.
- 57.- Dichiaro, G., Corsini, G., Mereu, G.P., Tissano, A. and Gessa, G.L. .- Self-inhibitory dopamine receptors: their role in the biochemical and behavioral effects of low doses of apomorphine. In: *Advances in Biochemical Psychopharmacology* (Eds. Roberts, P.S., Woodruff, G.N. and Iversen, L.) Vol. 19 Raven Press, N.Y. pp. 275-292.- 1978. 292.-
- 58.- DiFiglia, M., Graveland, G.A. and Schiff, L. .- Cytochrome oxidase activity in the rat caudate nucleus: light and electron microscopic observations.- *J. Comp. Neurol.* 255: 245-258.- 1987.
- 59.- Divac, F., Fonnum, F. and Storm-Mathisen, J. .- High affinity uptake of glutamate in terminals of corticostriatal axons.- *Nature* 266: 377-378.- 1977.
- 60.- Divac, F.- Does the neostriatum operate as a functional entity?. In: *Psychobiology of the striatum* (Eds. Cools, A.R., Lohman, A. and Van den Bercken, J.) Amsterdam, Elsevier, pp.21-30.-1977.

- 61.- Divac, I., Markowitsch, H.S. and Pritzel, M. .- Behavioral and anatomical consequences of small intrastriatal injections of kainic acid in the rat.- Brain Res. 151: 523-532.- 1978.
- 62.- Divac, I. .- Two levels of functional heterogeneity of the neostriatum.- Neurosci. 10: 1151-1155.- 1983.
- 63.- Donghue, J.P. and Merkenham, M. .- Neostriatal projections from individual cortical fields conform to histochemically distinct striatal compartments in the rat.- Brain Res. 365: 397-403.- 1986.
- 64.- Dray, A., Gonye, T., Oakley, N. and Tanner, T. .- Evidence for the existence of a raphe projection to the substantia nigra in rat.- Brain Res. 113: 45-57.- 1976.
- 65.- Dunnet, S.B., Bjorklund, A. and Stenevi, U. .- Dopamine-rich transplants in experimental Parkinsonism.- Trend Neurosci. 6: 266-270.- 1983.
- 66.- Epstein, M.H. and Barrows, C.H.- The effect of age on the activity of glutamic acid decarboxylase in various regions of the brain rats.- J. Gerontol. 24: 136-139.- 1969.
- 67.- Etienne, P. and Baudry, M. .- Calcium dependent aspects of synaptic plasticity, excitatory aminoacid neurotransmission, brain aging and schizophrenia: A unifying hypothesis. .- Neurobiol. Aging, 8: 362 - 366.- 1987.
- 68.- Fanerbo, L.O. and Hamberger, B. .- Regulation of 3H-5-hydroxytryptamine release from rat brain slices. J. Pharmacol. Pharmac. 26: 642-644.- 1974.

- 69.- Fallon, A. M. and Moore, R.Y. .- Catecholamine innervations of the basal forebrain IV. Topography of the dopamine projection to the basal forebrain and neostriatum.- J. Comp. Neurol. 180: 545-560.- 1978.
- 70.- Faull, R. L. and Mehler, W.R. .- The cells of origin of nigrotectal, nigrothalamic and nigrostriatal projection in the rat.- Neurosc. 3: 989-1002.- 1978.
- 71.- Feger, J., and Crossman, A.R. .- Identification of different subpopulation of neostriatal neurons projecting to globus pallidus or substantia nigra in the monkey. A retrograde fluorescence double labelling study.- Neurosc. Lett. 49: 7-12.- 1986.
- 72.- Finch, C.E., Randall, P.K. and Marshall, J. F. .- Aging and basal ganglia function.- Ann. Rev. Gerontol. Geriatr. 2: 47-49.- 1981.
- 73.- Forni, C., Brundin, P., Strecker, R.E., EL Ganouni, S., Bjorklund, A. and Nieoullon, A. .- Time-course of recovery of dopamine neruons activity during reinnervation of the denervated striatum by fetal mesencephalic grafts as assessed by in vivo voltametry.- Exp. Brain Res. 76: 75-87.- 1989.
- 74.- Francoise, G., Percheron, G., Yelnik, J. and Tande, J. .- A topographic study of the course of nigral axons and of the distribution of pallidal axonal endings in the centre median parafascicular complex of macaques.- Brain Res. 473: 181-186.- 1989.

- 75.- Freed, W.J., Perlow, M.J., Karoum, F., Seiger, A., Olson, L., Hoffer, B. J. and Wyatt, R.J. .- Restoration of dopaminergic function by grafting of fetal rat substantia nigra to the caudate nucleus: Long term behavioral, biochemical and histochemical studies.- Ann. Neurol. 8: 510-519.- 1980.
- 76.- Freed, W.J., Morohisa, E., Spoor, E., Hoffer, B.J. and Olson, L. .- Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behavior.- Nature 292: 351-352.- 1981.
- 77.- Freed, W.J., Ko, G.N., Niehoff, D.K. Kuher, M.J. and Hoffer, B.J. .- Normalization of spiroperidol binding in the denervated rat striatum by homologous grafts of substantia nigra.- Science 222: 937-939.- 1983.
- 78.- Freeman, A.S. and Bunney, B.S. .- The effects of phencyclidine and N-allylnormetazocine on midbrain dopamine neuronal activity.- Eur. J. Pharmacol. 104: 187-193.- 1984.
- 79.- Freeman, A.S., Meltzer, L.T. and Bunney, B.S. .- Firing properties of substantia nigra dopaminergic neurons in freely moving rats.- Life Sci. 36: 1983-1994.- 1985.
- 80.- Freeman, G.B. and Gibson, G.E.- Selective alteration of mouse brain neurotransmitter release with age.- Neurobiol. Aging 8: 147-152.- 1986.
- 81.- Freeman, A.S., Kellad, M.D., Revillard, C. and Chiodo, L. .- Electrophysiological characteristics and pharmacological responsiveness of midbrain dopaminergic neurons of the aged rats.- J. Pharmacol. Exp. Ther. 249: 790-797.- 1989.

- 82.- Fonnum, F., Gottesfeld, Z. and Grofova, I. .- Distribution of glutamate decarboxylase, choline acetyltransferase and aromatic amino acid decarboxylase in the basal ganglia of normal and operated rats. Evidence for striato pallidal, striato peduncular and striato nigral GABAergic fibers.- Brain Res. 143: 125-128.- 1978.
- 83.- Gage, F.H., Dunnett, S.B., Stenevi, U. and Bjorklund, A. .- Aged rats: Recovery of motor impairments by intrastriatal nigral grafts.- Science 221: 966-969.- 1983.
- 84.- Gage, F.H., Bjorklund, A., Steveni, U. and Dunnett, S.B. .- Grafting of embryonic CNS tissue to the damage adult hippocampal formation. In: Neural grafting in the mammalian CNS. Ed by Bjorklund, A. and Steveni, U.- Amsterdam, Elsevier Press, 559-573.- 1985.
- 85.- Gage, F. and Bjorklund A. .- Neural grafting in the aged rat brain.- Ann. Rev. Physiol. 48: 447 - 459.- 1986.
- 86.- Gage, F., Brundin, P., Strecker, R., Dunnet, S., Isacson, O. Bjorklund, A. .- Intracerebral neuronal grafting in experimental animal model of age-related motor dysfunction.- Annals N.Y. Acad. Sci. 515:383-393.- 1988.
- 87.- Gash, D.M., Sladek, J.R. and Sladek, C.D. .- Functional development of grafted vasopressin neurons.- Science 210: 266-270.- 1980.
- 88.- Gerfen, C.D. .- The neostriatal mosaic: Compartmentalization of cortico-striatal input and striatonigral output systems.- Nature 311: 461-464.-1984.

- 89.- Gerfen C.R. .- The neostriatal mosaic: I. Compartmental organization of projections from the striatum to the substantia nigra in the rat.- J.Comp. Neurol. 236: 454-476.- 1984.
- 90.- Gerfen, C.R., Herkenham, M. and Thibault, J. .- The neostriatal mosaic: II. Patch and matrix-directed mesostriatal dopaminergic and non-dopaminergic systems.-J. Neurosc. 7: 3915-3934.- 1987.
- 91.- Gerfen, C.R., Easimbridge, K.G. and Thibault, J. .- The neostriatal mosaic: III. Biochemical and developmental dissociation of patch-matrix mesostriatal systems.- J. Neurosc. 7: 3935-3944.-1987.
- 92.- German, D.C., Dalsass, M. and Kiser, R.S.- Electrophysiological examination of the ventral tegmental A 10 areas in the rat.- Brain Res. 181: 191-197.- 1980.
- 93.- Georgopoulos, A.P., DeLong, M.R. and Crutcher, M.D. .- Relations between parameters of step-tracking movement and single cell discharge in the globus pallidus and subthalamic nucleus of the behaving monkey.- J. Neurosci. 3: 1586-1598.- 1984.
- 94.- Gibson, C. and Peterson, C. .- Calcium and the aging nervous system.- Neurobiol. Aging 8: 329 - 343.- 1987.
- 95.- Gonnou, F.G. .- Non linear relationship between impulse flow and dopamine released by rat midbrain dopaminergic neurons as studied by in vivo electrochemistry.- Neurosc. 24: 19-28.- 1988.

- 96.- Govoni, S., Rius, R., Battani, F. and Trabucchi, M.- Reduced cAMP-dependent phosphorylation in striatum and nucleus accumbens of aged rats: Evidence of an altered functioning of D1 dopaminoceptive neurons.- J. Gerontol. Biological Sci. 43: 93-1988.
- 97.- Grace, A.A. and Bunney, B.S. .- GABA-agonist excitation of nigral dopamine cells mediation through reticulata inhibitory neurons.- Eur. J. Pharmacol. 59: 211-218.- 1979.
- 98.- Grace, A.A., Hommer, D.W. and Bunney, B.S. .- Peripheral and striatal influences on nigral dopamine cells: Mediation by reticulata neurons.- Brain Res. Bull. 5: Suppl. 2,105-109.- 1980.
- 99 .- Grace, A.A. and Bunney, B.S. .- Nigral dopamine neurons: Intracellular recording and identification with L-DOPA injection and histofluorescence.- Science 210: 645-656.-1980.
- 100.- Grace, A.A. and Bunney, B.S. .- Intracellular and extracellular electrophysiology of nigral dopaminergic neurons-1. Identification and characterization.- Neuroscience 10: 301-315.- 1983.
- 101.- Grace, A.A. and Bunney, B.S. .- Intracellular and extracellular electrophysiology of nigral dopaminergic neurons-2. Action potential generating mechanisms and morphological correlates.- Neuroscience 10: 317-331.- 1983.
- 102.- Grace, A.A. and Bunney, B.S. .- Intracellular and extracellular electrophysiology of nigral dopaminergic neurons-3. Evidence of electrotonic coupling.- Neuroscience 10: 333-348.- 1983.

- 103.- Grace, A.A. and Bunney, B.S. .- The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: Single spike firing.- J. Neurosc. 4: 2877-2890.- 1984.
- 104.- Grace, A.A. and Bunney, B.S. .- The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: Burst firing.- J. Neurosc. 4: 2877-2890.- 1984.
- 105.- Grace, A.A. and Bunney, B.S. .- Opposing effects of striatonigral feedback pathways on midbrain dopamine cell activity.- Brain Res. 333: 271-284.- 1985.
- 106.- Grace, A.A. and Bunney, B.S. .- Low doses of apomorphine elicit two opposing influences on dopamine cell electrophysiology.- Brain Res. 333: 285-298.- 1985.
- 107.- Grace, A.A. and Bunney, B.S. .- Induction of depolarization block in midbrain dopamine neurons by repeated administration of haloperidol: Analysis using in vivo intracellular recording.- J. Pharmacol. Exp. Ther. 238: 1092-1100.- 1986.
- 108.- Grace, A.A. and Shao-Pii Onn.- Morphology and Electrophysiological properties of immunocytochemically identified rat dopamine neurons recorded in vitro.- J. Neurosc. in press.- 1990.
- 109.- Grace, A.A. .- Evidence for the functional compartmentalization of spike generating regions of rat midbrain dopamine neurons recorded in vitro.- Brain Res. in press. 1990.
- 110.- Graybiel, A.M. .- Direct and indirect pathways of the brainstem: an autoradiographic study of the pontine reticular formation in the cat.- J.Comp. Neurol. 175: 37-78.- 1977.

- 111.- Graybiel, A.M., and Ragsdale, C.W. .- Histochemically distinct compartments in the striatum of human, monkey and cat demonstrated by acetylthiocholinesterase staining.- Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 75: 5723-5726.- 1978.
- 112.- Graybiel, A.M., Ragsdale, C.W. and Moon-Edley, S. .- Compartments in the striatum of the cat observed by retrograde cell-labeling.- Exp. Brain Res. 34: 189-195.- 1979.
- 113.- Graybiel, A.M. . Ragsdale, C.W. and Yoneoka, E.S. .- An immunohistochemical study of enkephalins and others neuropeptides in the striatum of the cat with evidence that the opiates peptides are arranged to form mosaic patterns in registers with the striosomal compartments visible by acetylcholinesterase staining.- Neurosc. 6: 337-397.- 1981.
- 114.- Graybiel, A. M. and Ragsdale, C.W. .- Chemical neuroanatomy (Ed. Emson, P.C.) Raven Press, pp.427-504.- 1983.
- 115.- Graybiel, A.M., Baughman, R.W. and Eckstein, I. .- Cholinergic neuropil of the striatum observes striosomal boundaries.- Nature 323: 625-627.- 1986.
- 116.- Gregerson, K.A. and Selamnoff, M. .- Changes in the kinetics of (³H) dopamine release from median eminence and striatal synaptosomes during aging.- Endocrinol. 126: 228-234.- 1990.
- 117.- Grofova I. .- The identification of striatal and pallidal neurons projecting to substantia nigra. An experimental study by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase.- Brain Res. 91: 286-291.- 1975.

- 118.- Grofová, I. .- Extrinsic connections of the neostriatum, In The neostriatum (Eds. Divac I. and Oberg, R.) Pergamon Press pp. 37-51.- 1979.
- 119.- Groves, P.M., Wilson, C.J., Young, S.J. and Rebec, G.V. .- Self-inhibition by dopaminergic neurons: An alternative to the neuronal feedback loop hypothesis for the mode of action of certain psychotropic drugs.-Science 190: 522-529.- 1975.
- 120.- Groves, P.M., Wilson, C.J. and MacGregor, R.J. .- Neuronal interactions in the substantia nigra revealed by statistical analysis of neuronal spike trains. In: Interactions between Putative Neurotransmitters in the Brain Ed. by Gerattini, S., Fujol, J.F. and Samanin, R. N.Y.- Raven Press, 191-225.- 1978.
- 121.- Groves, P.M. .- Synaptic endings and their postsynaptic targets in neostriatum: synaptic specializations revealed from analysis of serial sections.- Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 6926-6929.- 1980.
- 122.- Groves, P.M., Fenster, G.A., Tepper, J.M., Nakamura, S. and Young, S.J. .- Changes in dopaminergic terminal excitability by amphetamine and haloperidol. Brain Res. 221: 425-431.- 1981.
- 123.- Gupta, M. and Gupta, K. .- Aged mice show more severe motor deficits and morphological changes following MPTP treatment than their younger counterparts. In: Central determinant of age-related declines in motor function.- Annal. N.Y. Acad. Sci. 515 . 1988.
- 124.- Guyenet, P.G. and Aghajanian, G.K. .- Antidromic identification of dopaminergic and other output neurons of the rat substantia nigra.- Brain Res. 150: 69-84.- 1978.

- 125.- Guyenet, P.G. and Crane, J.K. .- Non-dopaminergic nigrostriatal pathway.- Brain Res. 213: 291-305.- 1981.
- 126.- Han Z., Kuyatt, B., Kochman, K., DeSouza, E and Roth, G. .- Effect of aging on concentrations of D2-receptor-containing neurons in the rat striatum.- Brain Res. 498N 299-307.-1989.
- 127.- Hartman Von Monakow, K., Akent, K. and Kunzle, H. .- Projection of the precentral motor cortex and other cortical areas of the frontal lobe to the subthalamic nucleus in the monkey.- Exp. Brain Res. 33: 395-403.- 1978.
- 128.- Hattori, T., Fibiger, H.C. and McGeer, P.L. .- Demonstration of a pallidal-nigral projection innervating dopaminergic neurons.- J. Comp. Neurol. 162: 487-504.- 1975.
- 129.- Helmreich, I., Reimann, W., Hertting, G. and Starke, K. .- Are presynaptic dopamine autoreceptors and postsynaptic dopamine receptors in the rabbit caudate nucleus pharmacologically different?.- Neurosc. 7: 1559-1566.- 1982.
- 130.- Henry, J.M. and Roth, G.S. .- Effect of aging on recovery of striatal dopamine receptors following n-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) blockade.- Life Sci. 35: 899-904.- 1984.
- 131.- Henry, J.M. and Roth, G.S. .- Modulation of rat striatal membrane fluidity: Effects of age related differences in dopamine receptor concentrations.- Life Sci. 39: 1223-1229.- 1986.
- 132.- Herkenham, M .- The afferent and efferent connections of the ventromedial thalamic nucleus in the rat.- J. Comp. Neurol. 153: 487-512.- 1979.

- 133.- Hicks, P., Strong, R., Schollar, J.C. and Samorajski, C. .- Aging alters amphetamine-induced stereotyped gnawing and neostriatal elimination of amphetamine in mice.- Life Sci. 27: 715-722.- 1980.
- 134.- Hinds, J.W. and McNelly, N.A. .- Aging of the rat olfactory bulb: Growth and atrophy of constituents layers and changes in size and number of mitral cells.- J. Comp. Neurol. 171: 345-368.- 1977.
- 135.- Hirata, K., Yim, C. and Mogenson, G. .- Excitatory input from sensory motor cortex to neostriatum and its modification by continuing stimulation of the substantia nigra.- Brain Res. 321: 1-8.- 1984.
- 136.- Hirschhorn, I., Makhan, M. and Sharpless, N.- Dopamine receptor sensitivity following nigrostriatal lesion in the aged rat.- Brain Res. 234: 357-368.- 1982.
- 137.- Hishino, K., Ono, T., Takahashi, J., Kimura, M., Shiosaka, S., Yamasaki, H., Hatanaka, H. and Tohyama, M. .- The formation of new neural circuit between transplanted nigral dopamine neurons and non-immunoreactive axon terminals in the host rat caudate nucleus.- Neurosci. Lett. 64: 13-16.- 1986.
- 138.- Hyttel J.- Parallel decrease in the density of dopamine D1 and D2 receptors in corpus striatum of rats from 3 to 25 months of age.- Pharmacol. Toxicol. 64 : 55-67.- 1989.
- 139.- Hoffmann, I.S. and Cubeddu, L.Y. .- Rate and duration of stimulation determine presynaptic effects of haloperidol in dopaminergic neurons.- J. Neurochem. 39: 585-588.- 1982.

- 140.- Johnson, S., Palmer, M. and Freedman, R. .- Effects of dopamine on spontaneous and evoked activity of caudate neurons.- Neuropharmac. 22: 843-851.- 1983.
- 141.- Jones, E.G. and Wise, S. P. .- Size, laminar and columnar distribution of efferents cells in the sensory motor cortex of monkeys.- J. Comp. Neurol. 175: 391-438.- 1977.
- 142.- Joseph, J.A., Berger, R.E., Engel, B.T. and Roth, G.S. .- Age-related changes in the neostriatum: A behavioral and biochemical analysis.- J. Gerontol. 33: 643-649.- 1978.
- 143.- Joseph, J.A., Filburn, C., Tzaikoff, S., Thompson, J. and Engel, B.- Age-related neostriatal alterations in the rat: Failure of L-DOPA to alter behavior.- Neurobiol. Aging 1: 119-125.- 1980.
- 144.- Joseph, J.A., Filburn, C.R. and Roth, G.S. .- Development of dopamine receptor denervation supersensitivity in the neostriatum of the senescent rat.- Life Sci. 29: 575-584.- 1981.
- 145.- Joseph, J.A. and Roth, G.S. .- Up regulation of striatal dopamine receptors and improvement of motor performance in senescence.- Annal. N.Y. Acad. Sci. 515: 355-362.- 1988.
- 146.- Joyce, J.N., Loeschen, S.K., Sapp, D.W. and Marshall, J.F. Age-related regional loss of caudate-putamen dopamine receptors revealed by quantitative autoradiography.- Brain Res. 378: 158-163.- 1986.
- 147.- Katz, B. and Miledi, R. .- Tetrodotoxin resistant electric activity in presynaptic terminals.- J. Physiol. 203: 459-487.- 1969.

- 148.- Kemp, J. M. and Powell, T.P. .- The site of termination of afferent fibers in the caudate nucleus.- Brain 93: 525-546.- 1971.
- 149.- Kim, R., Nakano, K., Jarayama, A. and Carpenter, M.B. .- Projection of the globus pallidus and adjacent structures: an autoradiographic study in the monkey.- J. Comp. Neurol. 169: 263-290.- 1976.
- 150.- Klemfuss, H.S., Young, S.J. and Groves, P.M. .- Do antidromic latency jumps indicate axonal branching in nigrostriatal and hypothalamo-neurohypophysial neurons?.- Brain Res. 409: 197-203.- 1987.
- 151.- Kramer, J. and Klawans, H.L. .- Involuntary movement disorders-each has a meaning of its own.- Geriatr. 34: 63-71.- 1979.
- 152.- Konig, J.R. and Klippel, R.A. .- The rat brain: A Stereotaxic Atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem.- Williams and Wilkins Co.- 1963.
- 153.- Krettek, J.E. and Price, J.L. .- Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat.- J. Comp. Neurol. 24: 414-427.- 1979.
- 154.- Landfield, P.W. .- Hippocampal neurobiological mechanism of age-related memory dysfunction.- Neurobiol. Aging 9: 571-579.- 1988.
- 155.- Landisky, H., Consolo, S. and Garattini, S. .- Increase in acetylcholine levels in vivo by piribedil, a new dopamine receptor stimulator.- Life Sci. 14: 1251-1260.-1974.

- 156.- Lehman, J. and Canger, S. .- The striatal cholinergic interneuron: synaptic target of dopaminergic terminals?.- Neurosci. 10: 1105-1120.-1983.
- 157.- Levine. P., Haji, M., Joseph. J.A.. and Roth, G.S. .- Effect of aging on prolactin regulation of rat striatal dopamine receptor concentrations.- Life Sci. 32: 1743-1749.- 1983.
- 158.- Levine, P., Janda, J.K., Joseph, J.A, Ingram, D.K. and Roth. G.S. .- Dietary restrictions retards the age-associated loss of rat striatal dopamine receptors.- Science 214: 561-562.- 1981.
- 159.- Levine. M.S., Lloyd, R.L., Hull, C.D., Fisher, R.S. and Buchwald. N.A. .- Neurophysiological alterations in caudate neurons in aged cats.- Brain Res. 401: 213-230.- 1987.
- 160.- Levine, M.S., Scheineder, J.S., Lloyd, R.S., Hull, C.D. and Buchwald. N.A. .- Aging reduces somatosensory responsiveness of caudate nucleus in the awake cats.- Brain Res. 405: 389-394.- 1987.
- 161.- Levine, M.S. .- Neurophysiological and morphological alterations in caudate neurons in aged cats. In: Central determinants of age-related declines in motor function.- N.Y. Acad. Sci. 515: 314-329.- 1988
- 162.- Liles, S.L. .- Activity of neurons in putamen during active and passive movements of wrist.- J. Neurophysiol. 53: 217-236.- 1985.
- 163.- Loopjuit.L.D. and Van der Kooy,D. .- Organization of the striatum: collaterilization of its efferent axons.- Brain Res. 348: 86-99.- 1985.

- 164.- MacLean. P.D. .- Effects of lesions of glubus pallidus on species-typical display behavior of squirrel monkeys.- Brain Res. 149: 175-196.- 1978.
- 165.- Marquis. J.K., Lippa. A.S. and Pelham. R.W.- Dopamine receptor alterations with aging in mouse and rat corpus striatum.- Biochem. Pharmacol. 30 :1876-1878.- 1981.
- 166.- Marsden. C.D. .- The mysterious motor function of the basal ganglia: The Robert Wartenberg Lecture.- Neurology 32: 514-539.- 1982.
- 167.- Marshall. J.F., Drew. M.C. and Neve. K.A. .- Recovery of function after mesotelencephalic dopaminergic injury in senescense.- Brain Res. 259: 241-260.- 1983.
- 168.- Martres. M. P., Constantin. J., Baudry. M., Marcais. M., Protais. P. and Schwartz. J.C. .- Long-term changes in the sensivity of pre and postsynaptic dopamine receptors in the mouse striatum evidence by bahavioral and biochemical studies.- Brain Res. 136: 319-337.- 1977.
- 169.- Matsumoto. A., Kobayashi. S., Muralsami. S. and Arai. Y. Recovery of declined ovarian function in aged female rats by transplantation of newborn hypotalamic tissue.- Proc. Jpn. Acad. 60: 73 - 76.- 1984.
- 170.- McGeer. E.G., Fibiger. H.C., McGeer. P.L. and Wickson. V. Aging and brain enzymes.- Exp. Gerontol. 6: 391-396.- 1971
- 171.- McGeer. P.L., McGeer. E.G. and Fibiger. M.C. .- Choline acetylase and glutamic acid decarboxylase in Hungtinton's chorea. A preliminary study.- Neurology 23: 912-917.- 1973.

- 172.- McGeer, P.L., Immaren, V.T. and McGeer, E. .- Evidence on the cellular localization of adenylyl cyclase in the neostriatum.- Brain Res. 118: 356-359.- 1976.
- 173.- McGeer, P.L., McGeer, E.G. and Suzuki, J.S. .- Aging and extrapyramidal functions.- Arch. Neurol. 34: 33-35.- 1977.
- 174.- McGeer, P.L. and McGeer, E.G. .- Aging and neurotransmitter systems. In : Parkinson's disease II. Aging and neuroendocrine relationships. Ed. by Finch, C.E., Potter, D.E. and Kenny.- Plenum Press, N.Y. 41-57.- 1978.
- 175.- McGeer, E.G., McGeer, P.L., Hattori, T. and Vincent, R.S. Kainic acid and neurotoxicity and Huntington's disease. In: II International Huntington's disease symposium. Ed by Chane, T.N., Wexler, N. and Barbeau, A.- Raven Press, N.Y. .- 1979.
- 176.- McGeer, P.L. and McGeer, E.G. .- Neurotransmitters in the aging brain. In: Molecular basis of neuropathology. Ed. by Davison, A.N. and Thompson, R. H.- Edward Arnold, London.- 1980.
- 177.- McGeer, E.G., Satines, W.A. and McGeer, P.L. .- Neurotransmitters in the basal ganglia.- Canad. J. Neurol. Sci. 11: 89-99.- 1984.
- 178.- McNeill, T.H., Koek, L.L., Brown, S.A. and Rafols, J.A.. .- Age-related changes in the nigrostriatal system. In: Central determinants of age-related declines in motor function.- N.Y.. Acad. Sci. 515: 239-2349.-1988.
- 179.- Mensah, P.L. .- The internal organization of the mouse caudate nucleus: evidence for cell clustering and regional variation.- Brain Res. 137: 53-66.- 1977.

- 180.- Mercuri, N., Bernardi, G., Calabresi, P., Cotugno, A., Levi, G. and Stanzione, P. .- Dopamine decreases cell excitability in rat striatal neurons by pre- and postsynaptic mechanism.- Brain Res. 358: 110-121.- 1985.
- 181.- Miller, J.D., Sanghera, M.K. and German, C.D. .- Mesencephalic dopaminergic unit activity in the behaviorally conditioned rat.- Life Sci. 29: 1255-1263.- 1981.
- 182.- Misra, Ch., Shelat, H.S. and Smith, R.C. .- Effect of age on adrenergic and dopaminergic receptor binding in rat brain.- Life Sci. 27: 521-526.- 1980.
- 183.- Misra, C.H., Shelat, H. and Smith, R.C. .- Influence of age on the effects of chronic fluphenazine on receptor binding in rat brain.- Eur. J. Pharmacol. 76: 317-324.- 1981.
- 184.- Moore, R.Y., Bhatnagar, R.K. and Meller, A. .- Anatomical and chemical study of the nigro-neostriatal projection in the cat.- Brain Res. 30: 119-135.- 1971.
- 185.- Moore, R.Y., Halaris, A.E. and Jones, B.E. .- Serotonin neurons of the midbrain raphe: Ascending projections.- J. Comp. Neurol. 180: 417-438.- 1978.
- 186.- Morgan, D.G. and Finch, C.E. .- Dopaminergic changes in the basal ganglia: A generalized phenom of aging in mammals.- Annal. N.Y. Acad. Sci. 151: 145-161.- 1988.
- 187.- Nakanishi, H., Kita, H. and Kitai, S.T. .- Intracellular study of rat substantia nigra pars reticulata neurons in an in vitro slice preparation: electrical membrane properties and response characteristics to subthalamic stimulation.- Brain Res. 437: 45-55.- 1987.

- 188.- Nauta, H.J. and Cuenod, M. - Perikaryal cell labeling in the subthalamic nucleus following the injection of 3H-y-aminobutyric acid into the pallidal complex: an autoradiographic study in cat.-Neurosci. 7: 2725-2734.- 1982.
- 189.- Nishino, H., Ono, T., Shibata, R., Kawamata, S., Watanabe, H., Shiosaka, S. Tohyama, M. and Karadi, Z.- Adrenal medullary cells transmute into dopaminergic neurons in dopamine-depleted rat caudate and ameliorate motor disturbance.- Brain Res. 445: 325-337.- 1988.
- 190.- Norman, A.B., Calderon, S.F., Giordano, M. and Sanberg, P.R. Striatal tissue transplants attenuate apomorphine-induced rotational behavior in rats with unilateral kainic acid lesions.- Neuropharmacol. 27: 333-336.- 1988.
- 191.- O'Boyle, K.M. and Waddington, J.C. - Loss of rat striatal dopamine receptors with aging as selective for D-2 but not D-1 sites: Association with increased nonspecific binding of the D-1 ligand (3H) piflutixol.- Eur. J. Pharmacol. 105: 171-174.- 1984.
- 192.- Olson, L., Seiger, A. and Fuxe, A. - Heterogeneity of striatal and limbic dopamine innervation. Highly fluorescent islands in developing and adult rats.- Brain Res. 44: 282-285.- 1972.
- 193.- Osterburgh, H.H., Donahue, H.G., Severson, J.A. and Finch, C.E. - Catecholamine levels and turnover during aging in brain regions of male C57B1/6J mice.- Brain Res. 161: 303-310.- 1981.

- 194.- Parent, A., Mackey, A. and De Bellefeuille, L. .- The subcortical afferents to caudate nucleus and putamen in primate: a fluorescence retrograde double labeling study.- Neurosc. 10: 1137-1150.- 1983.
- 195.- Parent, A., Bouchard, C. and Smith, Y. .- The striatopallidal and striatonigral projections: two distinct fiber systems in primates.- Brain Res. 303: 385-390.- 1984.
- 196.- Park, M.R., Lightall, J.W. and Kitai S.T. .- Recurrent inhibition in the rat neostriatum.- Brain Res. 194: 359-369.- 1980.
- 197.- Penney, J.B. and Young, A.B. .- GABA as the pallidothalamic neurotransmitter: implications for basal ganglia functions.- Brain Res. 207: 195-199.- 1981.
- 198.- Penney, G.R., Afsharpour, S. and Kitai, S. .- The glutamate decarboxylase, Leucine-enkephalin, Methionine-enkephalin and Substance P immunoreactive neurons in the neostriatum of the rat and cat: Evidence for partial population overlap.- Neurosc. 17: 1011-1045.- 1986.
- 199.- Perlow, M.J., Kumakura, K. and Guidotti, A.- Prolonged survival of bovine adrenal chromaffin cells in rat cerebral ventricle.- Proc. Natl. Aca. Sci. U.S.A. 77: 5278-5281.- 1980.
- 200.- Pezzoli, G., Fahn, S., Dwork, A., Truong, D., de Yerbene, J., Jackson-Lewis, V., Herbert, J. and Cadet, J.L. .- Non-chromaffin tissue plus nerve growth factor reduces experimental parkinsonism in aged rats.- Brain Res. 459: 398-403.- 1988.

- 201.- Pickel, V.M., Beckley, S.C., Joh, T.H. and Reiss, D.J. .- Ultrastructural immunocytochemical localization of tyrosine hydroxylase in the neostriatum.- Brain Res. 225: 373-385.- 1981.
- 202.- Ponzio, F. and Algeri, S.- Chatecolamine synthesis in brain of aging rats.- J. Neurochem. 30: 1617-1620.- 1978.
- 203.- Ponzio, F., Calderini, G., Lomuscio, G., Valentini, G., Toffano, G. and Algeri, S. .- Changes in monoamine and their metabolites level in some regions of aged rats.- Neurobiol. Aging 3: 23-39.- 1982.
- 204.- Ponzio, F., Achilli, G., Calderini, G., Ferretti, P., Pergo, C., Toffano, G. and Algeri, S. .- Depletion and recovery of neuronal monoamine storage in rat of different ages treated with reserpine.- Neurobiol. Aging 5: 101-104.- 1984.
- 205.- Puri, S.K. and Volicer, L.- Effects of aging on cyclic AMP levels and adenylate cyclase and phosphodiesterase activities in the rat corpus striatum.- Mech. Aging Dev. 6: 53-58.- 1977.
- 206.- Pradhan, S.N. .- Minireview: Central neurotransmitters and aging.- Life Sci. 26: 1643-1656.- 1980.
- 207.- Pritzel, M., Huston, J.P. and Sarter, M. .- Behavioral and neuronal neorganization after unilateral substantia nigra lesions: evidence for increased interhemispheric nigrostriatal projections.- Neurosc. 9: 879-888.- 1983.
- 208.- Ragsdale, C.W. and Graybiel, A. M. .- The fronto-striatal projection in the cat and monkey and its relationship to inhomogeneities established by acetylcholinesterase histochemistry.- Brain Res. 208: 259-266.- 1981.

- 209.- Raitieri, M., Bonnanno, G., Calderini, G., Caviglia, A., Marchi, M. and Maura, G. .- Calcium dependence of trasnmmitter release in nerve endings isolated from the brain of aged rats.- Soc. Neurosc. Abst. 12: 271.- 1986.
- 210.- Randall, P.K., Severson, J.A. and Finch, C.E.- Aging and the regulation of striatal dopaminergic mechanism in mice.- J. Pharmacol. Exp. Ther. 219: 695-700.-
- 211.- Randall, P.K. .- Functional aging of the nigrostriatal system.- Peptides 1: 177-184.- 1980.
- 212.- Reis, D.J., Ross, R.A. and Joh, T.H. .- Changes in the activities and amounts of enzymes synthetizing catecholamines and acetylcholine in the brain, adrenal medulla and sympathetic ganglia of aged rat and mouse.- Brain Res. 64: 345-353.- 1977.
- 213.- Reiderer, P. and Wuketich, S.T. .- Time course of nigrostriatal degeneration on Parkinson disease.- J. Neural. Transm. 38: 277-301.- 1986.
- 214.- Rinne, O., Lonnberg, P and Marjamaki, P..- Age-dependent decline in human brain dopamine D1 ans D2 receptors.- Brain Res. 508: 349-352.-1990.
- 215.- Rogers, J., Silver, M.A., Shoemaker, W.J. and Bloom, F.E. Senescent changes in a neurobiological model system: cerebellar Purkinje cell electrophysiology and correlative anatomy.- Neurobiol. Aging 1: 3-11.- 1980.
- 216.- Rogers, J., Hoffman, G.E., Zoernetzer, S.F. and Vale, W.W. Hypotalamic grafts and neuroendocrine cascade theories of aging In: Neural transplants: Development and function. Ed. Sladek, J.R. and Gash, M. N.Y.- Plenum Press 205-222.- 1984

- 217.- Rogers, J. and Aston-Jones, G. .- The neurophysiology of aging: Insights from new applications of old techniques.- Neurobiol. Aging 9: 601-605.- 1988.
- 218.- Romo, R., Cheramy, A., Godeheu, G. and Glowinski, J. .- Distinct commissural pathways are involved in the enhanced release of dopamine induced in the contralateral caudate nucleus and substantia nigra by unilateral application of GABA in the cat thalamic motor nucleus.- Brain Res. 30: 43-52.- 1984.
- 219.- Romo, R. and Schultz, W. .- Prolonged changes in dopaminergic terminal excitability and short changes in dopaminergic neuron discharge after short peripheral stimulation in monkey.- Neurosc. Lett. 62: 335-340.- 1985.
- 220.- Romo, R., Cheramy, A., Godeheu, G. and Glowinski, J. .- In vivo presynaptic control of dopamine release in the cat caudate nucleus-I. Opposite changes in neuronal activity and release evoked from thalamic motor nuclei.- Neurosc. 19: 1067-1079.- 1986a.
- 221.- Romo, R., Cheramy, G., Godeheu, G. and Glowinski, J. .- In vivo presynaptic control of dopamine release in the cat caudate nucleus-III. Further evidence for the implication of corticostriatal glutamatergic neurons.- Neurosc. 19: 1091-1099.- 1986b.
- 222.- Roth, R.H., Wolf, M.E. and Deutch, A.Y. .- Neurochemistry of midbrain dopamine systems. In: Psychopharmacology: The third generation of progress. Ed. by Meltzer, H.Y. - Elsevier, Amsterdam. 81-94.- 1987.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 223.- Rouzair-Dubois, B. and Scarnati, E. .- Pharmacological study of the cortical - induced excitation of subthalamic nucleus neurons in the rat: Evidence for amino acids as putative neurotransmitters.- Neurosc. 21: 429-440.- 1987.
- 224.- Royce, G.J. and Moorey, R.J. .- Efferent connections of the centromedian and parafascicular thalamic nuclei: an autoradiographic investigation in the cat.- J. Comp. Neurol. 235: 277-300.- 1985.
- 225.- Saletu, B. .- Neurophysiological aspects of aging and gerontopsychopharmacology. In: Diagnosis and treatment of old age dementias. Ed. by Lehmann, B.E. 43-55.- 1989.
- 226.- Scheibel, M.E., Tomiyosa, U. and Scheibel, A.B. .- The aging human Betz cells.- Exp. Neurol. 56: 598-609.- 1977.
- 227.- Scheibel, A.B. .- The gerohistology of the aging human forebrain: Some structuro-functional considerations. In: Brain neurotransmitters and receptors in aging and age-related disorders. Ed. by Enna, S.J., Samorajski, T. and Beer, B. - Raven Press, N.Y. 31-42.- 1981.
- 228.- Schultz, W. .-Activity of pars reticulata neurons of the monkey substantia nigra in relation to motor, sensory and complex events.- J. Neurophysiol. 55: 660-677.- 1986.
- 229.- Schultz, W. .- Responses of midbrain dopamine neurons to behavioral trigger stimuli in the monkey.- J. Neurophysiol. 56: 1439-1461.- 1986.
- 230.- Schultz, W., Ruffieux, A. and Aebischer, P. .- The activity of pars compacta neurons of the monkey substantia nigra in relation to motor activation.- Exp. Brain Res. 51: 377-387.- 1983.

- 231.- Scott, B., Leu, J. and Cinader, B. - Effects of aging on neuronal electric membrane properties.- Mechanism of aging and development 44: 203 - 214.- 1988.
- 232- Serong, R., Waymire, J., Samorajski, T. and Gotteseed, Z.- Regional analysis of neostriatal cholinergic and dopaminergic receptor binding and tyrosine hydroxylase activity as a function of aging.- Neurochem. Res. 9: 1641-1652.- 1984.
- 233.- Sethy, V.H. and Van Woert, M.H.- Modification of striatal acetylcholine concentration by dopamine receptor agonist and antagonist.- Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 8: 13-28.- 1974.
- 234.- Severson, J.A., Mercusson, J., Winbland, B. and Finch, C.- Age-correlated loss of dopaminergic binding sites in human basal ganglia.- J. Neurochem. 39: 1623-1631.- 1982.
- 235.- Sladek, J.R. and Gash, D.M. - The use of neural grafts as a means of restoring neuronal loss associated with aging.- Anat. Rec. 202: 178-185.- 1982.
- 236.- Sladek, J.R., Gash, D.M. and Collier, T.J. - Noradrenergic neurons transplants into the third ventricle of aged F 344 rats improve inhibitory avoidance memory performance.- Soc. Neurosc. Abst. 10: 772.- 1984.
- 237.- Smith, D.O. and Rosenheimer, J.L. - Factors governing speed of action potential conduction and neuromuscular transmission in aged rats.- Exp. Neurol. 83: 358-366.- 1984.
- 238.- Smith, D. O.- Changes in cellular neurophysiology during aging.- Review Biol. Res. Aging 3: 207-221.- 1987.

- 239.- Smith, Y. and Parent, A. .- Neurons of the subthalamic nucleus in primates display glutamate but not GABA immunoreactivity.- Brain Res. 453: 353-356.- 1988.
- 240.- Somogyi, P., Bolam, J.P. and Smith, A.D.. - Monosynaptic cortical input and local axon collaterals of identified striatonigral neurons. A light and electron microscopic study using the Golgi-peroxidase transport-degeneration procedure.- J. Comp. Neurol. 195: 567-584.- 1981.
- 241.- Starke, K., Reimann, W., Zumstein, A. and Hertting, G. .- Effect of dopamine receptor agonist on release of dopamine in rabbit caudate nucleus in vitro.- Nau. Sch. Arch. Pharmac. 305: 27-36.- 1978.
- 242.- Steinfels, G.F., Heym, M. and Jacobs, B.L. .- Single unic activity of dopaminergic neurons in freely moving rats.- Life Sci. 29: 1345-1442.- 1981.
- 243.- Spencer, H.J. .- Antagonism of cortical excitation of striatal neurons by glutamic acid diethyl ester: evidence from glutamic acid as an excitatory transmitter in the rat striatum.- Brain Res. 102: 91-101.- 1976.
- 244.- Stanton, G.B., Goldberg, M.E. and Bruce, C.J. .- Frontal eye field efferents in the macaque monkey. I. Subcortical pathways and topography of striatal and thalamic terminal fields.- J. Comp. Neurol. 271: 473-492.- 1988.
- 245.- Steinfels, G.F., Heym, J. and Jacobs, B.L...- Behavioral correlates of dopaminergic unit activity in freely moving cats.- Brain Res. 258: 217-228.- 1983.

- 246.- Strecker, R.E. and Jacobs, B.L. .- Substantia nigra dopaminergic unit activity in behaving cats: Effect of arousal on spontaneous discharge and sensory evoked activity.- Brain Res. 361: 339-350.- 1985.
- 247.- Strecker, R.L. and Jacobs, B.L. .- Dopaminergic unit activity during behavior In: Neurophysiology of dopaminergic systems: Current status and clinical perspectives (Ed. Chidodo, L.A. and Freeman, A.S.) Grosse Pointe Lakeshore Publish Co. 165-185.- 1987.
- 248.- Strong, R., Hicks, P., Hsu, L., Batus, R.T. and Enna, S.J. Age-related alterations in the rodent brain cholinergic system and behavior.- Neurobiol. Aging 1: 59-63.- 1980.
- 249.- Strong, R. .- Regionally selective manifestation of neostriatal aging.- Annals. N.Y. Acad. Sci. 515: 161-177.- 1988.
- 250.- Swanson, L.W. .- The projection of the ventral tegmental area and adjacent regions: A combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat.- Brain Res. Bull. 91: 321-353.-1982.
- 251.- Takeuchi, H., Young, J.J. and Groves, P. .- Dopaminergic terminal excitability following arrival of the nerve impulse: The influence of amphetamine and haloperidol.- Brain Res. 245: 47-56.- 1982.
- 252.- Tanji, J. and Kunata, K. .- Comparison of movement-related activity in two cortical motor areas of primates.- J. Neurophysiol. 48: 633-653.- 1982.

- 253.- Tanji, J. and Kumata, K. .- Contrasting neuronal activity in supplementary and precentral motor cortex of monkeys. I. Responses to instructions determining motor responses to forthcoming signals of different modalities.- J. Neurophysiol. 53: 129-141.- 1985.
- 254.- Thach, W.. T. .- Correlation of neural discharge with pattern and force of muscular activity, joint position, and direction of intended next movement in motor cortex and cerebellum.- J. Neurophysiol. 41: 654-670.- 1978.
- 255.- Timiras, P.S., Hudson, D.B. and Segal, P.E. .- Life-time brain serotonin: Regional effect of age and precursor availability.- Neurobiol. Aging 5: 235-242.- 1984.
- 256.- Ungersted, U. .- Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain.- Acta Physiol. Scand. 367 Suppl. 1: 1-48.- 1971.
- 257.- Vicq d'Azyr 1867 tomado de: Dray, A. and Straughan, D. W. Synaptic mechanism in the substantia nigra.- J. Pharm. Pharmac. 28: 400-405.- 1976.
- 258- Vincent, S.R. and Johansson, O. .- NADPH-Diaphorase: A selective histochemical marker for striatal neurons containing both somatostatin and avian pancreatic polypeptide (APPP)-Like immunoreactivities.- J. Comp. Neurol. 217: 252-263.- 1983.
- 259.- Vincent, S.R. and Johansson, O. .- Striatal neurons containing both somatostatin- an avian pancreatic polypeptide (APP)-like immunoreactives and NADPH-Diaphorase activity: a Light and electron microscopic study.- J. Comp. Neurol. 217: 264-270.- 1983.

- 260.- Wang, R.K., Prince, D.A. and Busbaum, A.I. .- Intradendritic recording from hippocampal neurons.- Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 986-990.- 1979.
- 261.- Watson, S.J., Akil, H., Sullivan S. and Barchas, J.D. .- Immunocytochemical localization of methionine enkephalin.- Life Sci. 21: 733-738.- 1977
- 262.- Weinrich, M. and Wise, S.P. .- The promotor cortex of the monkey.- J. Neurosc. 2: 1329-1345.- 1982.
- 263.- Wise, S.P. and Mauritz, R.H. .- Motor aspects of the cue-related neuronal activity in premotor cortex of the rhesus monkey.- Brain Res. 260: 301-305.- 1983.
- 264.- Wong, D.F., Wagner, H.N., Dannals, R.F., Links, J.M., Frost, J.J., Ravent, H.T., Wilson, A.A., Rosenbaum, A.E., Gjedde, A., Douglass, K.H., Petronis, J.D., Folstein, M.J., Toung, J.K., Burns, H.D. and Kuhar, M.J. .- Effects of age on dopamine and serotonin receptors measured by positron tomography in the living humans brains.- Science 226: 1393-1396.- 1984.
- 265.- White, F.J. and Wang, R.Y. .- A10 dopamine neurons: Role of autoreceptors in determining firing rate and sensivity to dopamine agonist.- Life Sci. 34: 1161-1170.- 1984.
- 266.- Yelnik, J., Percehron, G. and Francoise, C. .- A Golgi analysis of the primate globus pallidus.II Quantitative morphology and spatial orientation of dendritic arborization.-J. Comp. Neurol. 227: 200-213.- 1984.
- 267- Yelnik, J., Francoise, C., Percheron, G.- and Meyner S. .- Gols study of the primate substantia nigra. I. Quantitative morphology and typology of nigral neurons.- J. Comp. Neurol. 265: 455-472.- 1987.

268.- Young, A.B., Bromberg, M.B. and Penney, J.B. - Decreased glutamate uptake in subcortical areas deafferented by sensorimotor cortical ablation in the cat. - J. Neurosci. 1 :241-249. - 1981.