

9
2ef.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

03062

"LOS TRANSPLANTES FETALES DE SUBSTANCIA NIGRA Y DE MEDULA ADRENAL, COLOCADOS EN EL VENTRICULO CONTRALATERAL A LA LESION DE LA VIA NIGROESTRIATAL, INDUCEN DECREMENTO EN LA CONDUCTA DE GIRO SIN PRODUCIR CAMBIOS EN LA DENSIDAD DE LOS RECEPTORES DOPAMINERGICOS ESTRIATALES."

FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MAESTRO EN INVESTIGACION BIOMEDICA BASICA

P R E S E N T A:

ESTEBAN JOSE LUIS MENDOZA RAMIREZ

CON LA DIRECCION ACADEMICA DEL DR. RENE RAUL DRUCKER COLIN

MEXICO, D.F.

OCTUBRE DE 1991.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

- DEDICATORIAS	
- AGRADECIMIENTOS	
- RESUMEN	
- SISTEMA DOPAMINERGICO MESENFALICO.....	1
- PARTICIPACION DE LA DOPAMINA EN EL CONTROL MOTOR.....	2
- MODELO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON CON LA NEUROTOXINA 6-OHDA.....	3
- MODELO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON CON MPTP.....	7
- PAPEL NEUROMODULADOR DE LA DOPAMINA EN EL CUERPO ESTRIADO..	7
- RECEPTORES DOPAMINERGICOS.....	8
- CARACTERISTICAS FUNCIONALES DE LOS RECEPTORES DOPAMINERGICOS.....	10
- OBJETIVOS Y PRINCIPIOS BASICOS DE LOS TRANSPLANTES AL CEREBRO.....	12
- RESPUESTA DEL CEREBRO A LOS TRANSPLANTES INTRACEREBRALES..	14
- TIPOS DE TRANSPLANTE.....	14
- SITIO DE COLOCACION DEL TRANSPLANTE.....	15
- CARACTERISTICAS QUE FAVORECEN LA SOBREVIVENCIA DE UN TRANSPLANTE.....	16
- BARRERA HEMATOENCEFALICA.....	16
- ANTIGENOS DEL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD.....	19
- TRANSPLANTES DE TEJIDO CATECOLAMINERGICO EN LA CONDUCTA DE GIRO.....	20
- TRANSPLANTES DE SUBSTANCIA NIGRA FETAL.....	21
- CARACTERISTICAS FUNCIONALES Y ESPECIFICIDAD.....	22
- CARACTERISTICAS INTRINSECAS DE LAS NEURONAS DOPAMINERGICAS TRANSPLANTADAS.....	22
- RECONSTRUCCION DEL SISTEMA NIGRO ESTRIATAL.....	23
- TRANSPLANTES DE MEDULA ADRENAL.....	25
- CARACTERISTICAS FUNCIONALES DE LOS TRANSPLANTES DE MEDULA ADRENAL.....	26
- EFECTOS TERAPEUTICOS DE LOS TRANSPLANTES EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON.....	31

- OBJETIVO.....	32
- ARTICULO ANEXO.....	000
- DISCUSION.....	33
- CONCLUSIONES.....	40
- BIBLIOGRAFIA.....	41

SISTEMA DOPAMINERGICO MESENFALICO.

Desde el punto de vista anatómico, es los mamíferos la población de neuronas dopaminérgicas del tegmento mesencefálico, se ha dividido en dos sistemas. En la región cercana a la línea media está el área ventral tegmental que da origen al sistema mesolímbico, que inerva al tubérculo olfatorio, la región ventromedial del cuerpo estriado (que en los felinos y en los primates corresponde al núcleo caudado), el núcleo accumbens, el septum lateral, el núcleo central amigdalino, el hipocampo, la habénula, el lecho de la estria terminalis, las cortezas cingulada anterior, piriforme y entorrinal, el locus coeruleus y el núcleo lateral parabraquial [FIGURAS 1a,1b] (Roth y cols, 1987).

La región lateral al área ventral tegmental corresponde a la substancia nigra compacta, que inerva al cuerpo estriado y a las cortezas cingulada anterior, perirrinal y piriforme, formando lo que se conoce como el sistema nigroestriatal [FIGURAS 1a, 1b] (Roth y cols, 1987).

A las neuronas dopaminérgica localizada en la región caudal de la substancia nigra y del área ventral tegmental, se le denomina como área retrorubral y sus axones inervan a algunos de los sitios de proyección de los sistemas mesolímbico y nigroestriatal [FIGURA 1a, 1b] (Roth y cols, 1987).

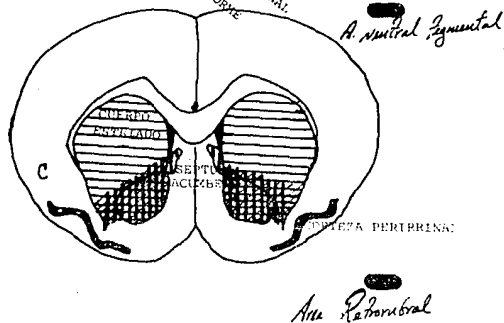
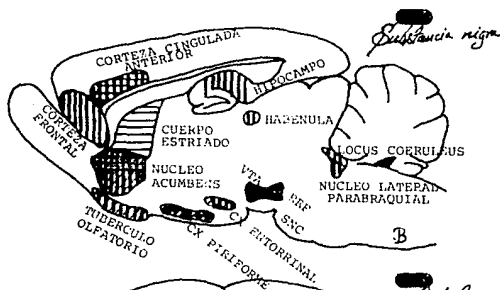
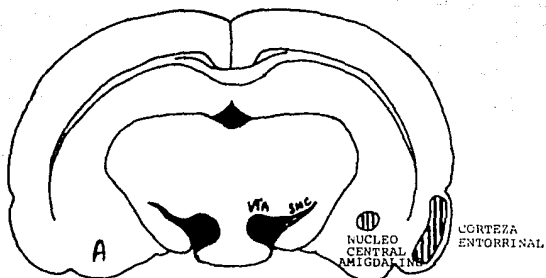


Figura 1. Diagrama de las proyecciones eferentes de la substancia nigra compacta (SNC), área ventral tegmental (VTA) y área retrorubral (RRF) en el cerebro de la rata, dichas proyecciones cursan por el haz del cerebro medio anterior y los campos terminales de la SNC están señalados por líneas horizontales, para VTA por líneas verticales y para el RRF por líneas diagonales.

Algunas neuronas de estos tres núcleos mesencefálicos secretan en el telencéfalo colecistocinina además de dopamina; otras secretan neurotensina en lugar de colecistocinina y otras secretan a las tres sustancias (Roth y cols, 1987).

Como una característica de estas neuronas, las dendritas tienen la capacidad de sintetizar, de secretar y de reincorporar a la dopamina extracelular. Asimismo, se ha mostrado que la secreción dopaminérgica de las dendritas no depende de estímulos depolarizantes, pero sí de la presencia de calcio intracelular. Dicha secreción también se acompaña de una disminución del aporte de dopamina en el estriado ipsilateral y de un incremento en el estriado contralateral (Cheramy y cols, 1981, 1985; Chiodo y cols, 1984; Robertson y Robertson, 1989).

PARTICIPACION DE LA DOPAMINA EN EL CONTROL MOTOR

En animales de laboratorio, Carlsson y cols (1957) indujeron la depleción dopaminérgica estriatal con reserpina, produciendo un síndrome de acinesia temporal semejante a la que ocurre en la enfermedad de Parkinson. Asimismo, encontraron que la administración sistémica de L-DOPA revirtió dicho síndrome (Birkmayer y Birkmayer, 1989). Estas alteraciones también se indujeron con antagonistas de los receptores dopaminérgicos. En concordancia con ésto, la estimulación de los receptores

dopaminérgicos del cuerpo estriado y del núcleo accumbens, produjo un incremento en la actividad motora, así como el husmeo y el acicalamiento de manera estereotipada (Creese y cols, 1982, 1983; Arnt, 1987).

Por otro lado, Cotzias y cols (1967) mostraron que la administración de L-DOPA produjo una disminución de los síntomas motores de pacientes con la enfermedad de Parkinson (Wooten y Trugman, 1989).

Estos estudios fueron la base para considerar que la actividad motora tenía un componente dopaminérgico. Así se propuso que la destrucción del sistema nigroestriatal en animales de laboratorio permitiría el estudio de esta enfermedad. Para producir la destrucción del sistema nigroestriatal se han desarrollado dos neurotoxinas; la 6-hidroxidopamina (6-OHDA), que se utiliza en la generación del modelo de la conducta de giro, modelo que se ha desarrollado más usualmente en la rata y el 1-metil,4-fenil,1,2,5,6-tetrahidropiridina (MPTP), droga que se ha utilizado más frecuentemente en primates (Langston y cols, 1987).

MODELO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON CON LA NEUROTOXINA 6-OHDA

Antecedentes:

El descubrimiento de los efectos de la 6-OHDA se remonta a la

decada de 1950. Se observó que esta droga administrada por vía sistémica produjo la denervación de los tejidos con inervación simpática [noradrenérgica] (Thoenen y Tranzer, 1973), y ya que esta droga no atraviesa la barrera hematoencefálica, se administró directamente en el sistema ventricular, en la región parenquimal donde se encuentran las neuronas catecolaminérgicas o por donde cursan sus procesos (Ungerstedt, 1971a,b,c; Langston y cols 1987) [FIGURA 2].

Se mostró que los efectos de esta droga no alteran de manera permanente la concentración de otros neurotransmisores en el cerebro, como por ejemplo la serotonina [5-HT], la acetilcolina [ACh] y el ácido gama-aminobutirico [GABA] (Zigmond y Stricker, 1989).

Parece ser que los efectos tóxicos de la 6-OHDA se deben a que la droga es un análogo estructural de las catecolaminas [FIGURA 3], razón por la que es incorporada en las neuronas catecolaminérgicas a través de un sistema de transporte de alta afinidad para estas aminas. Una vez dentro de la neurona, la 6-OHDA se oxida rápidamente y da lugar a varios compuestos citotóxicos, entre los que se incluye al peroxido de hidrógeno, radicales libres, aminocromos y quinonas. Estos compuestos provocan la muerte neuronal y en consecuencia, la denervación de los sitios de proyección (Iversen, 1973; Thoenen y Tranzer, 1973; Jonsson, 1980; Graham y cols, 1978).

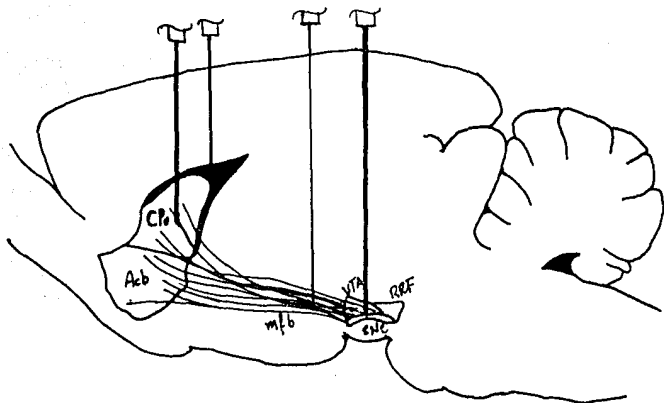


Figura 2. Esquema sagital del cerebro de ratona donde se ilustran los sitios donde se ha inyectado a la 6-OHDA para inducir la destrucción del sistema nigroestriatal. CPU corresponde al cuerpo estriado; Acb al acúmbens

Modelo:

Se ha observado que la lesión bilateral del sistema dopaminérgico nigroestriatal con la 6-OHDA, induce un síndrome de acinesia y una disminución bilateral de la integración sensoriomotora; estas alteraciones además se acompañan de adipsia y afagia permanentes, que finalmente conducen a la muerte de los animales (Langston y cols 1987; Zigmond y Stricker, 1989).

Por otro lado, la destrucción unilateral del sistema nigroestriatal produce un modelo de hemiparkinsonismo, en el que los animales cursan con adipsia y afagia temporal [de 7 a 10 días]. La respuesta de las neuronas estriatales a la ausencia del aporte dopaminérgico, consiste en incrementar el número de receptores del tipo DA2 (VER RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS). Así en este modelo se produce una disminución sensorial en el lado contralateral a la lesión y una asimetría motora que se puede ponderar con agonistas dopaminérgicos. Por ejemplo, la anfetamina (0.5 mg/kg i.p.) la cual induce la secreción y la permanencia de dopamina en las terminales estriatales del lado sano, provoca que el animal se desplace en círculos orientados hacia el lado de la denervación [giro ipsilateral] (Ungerstedt, 1971b). En contraparte, la apomorfina (0.25 mg/kg i.p.) que interacciona con los receptores dopaminérgicos, provoca que el giro sea hacia el lado contrario de la lesión [giro contralateral], ya que el número de receptores es mayor en el lado de la lesión (Ungerstedt, 1971b,c).

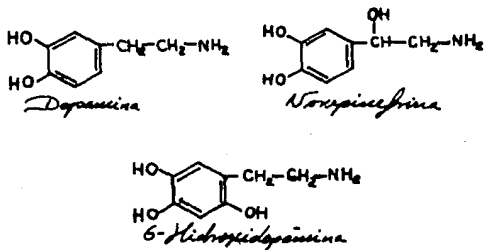


Figura 3. Estructura molecular de la 6-hidroxidopamina en la que se ilustra su semejanza con las catecolaminas.

Ya que con ambas manipulaciones farmacológicas la rata se desplaza en círculos, esta preparación también se conoce como el modelo de la conducta de giro.

Cabe señalar que estas alteraciones sensoriomotoras pueden ser definitivas si el aporte de dopamina en el cuerpo estriado denervado es disminuido en más del 95% (Iversen, 1973). De lo contrario, el animal mostrará un restablecimiento gradual de las funciones alteradas (Hefti y cols, 1980; Robinson y Whishaw, 1988).

Se ha propuesto que la hipersensibilidad conductual subsecuente a la denervación dopaminérgica estriatal, se debe a un incremento en la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos como respuesta a la ausencia del neurotransmisor (Ungerstedt, 1971c). Posteriormente se demostró que la hipersensibilidad conductual se debe a un incremento en el número de receptores dopaminérgicos estriatales del tipo DA2, sin embargo, la afinidad de estos receptores por la dopamina no cambia [VER SECCION DE RECEPTORES DOPAMINERGICOS] (Creese y cols, 1977; 1979; Joyce y cols, 1985a, 1985b, 1987; Neve y cols, 1984; Marshall y cols, 1989). Asimismo, se demostró que existe una correlación entre el incremento en el número de receptores con la síntesis del RNAm de dicho receptor en las neuronas estriatales deafferentadas de dopamina (Meador-Woodruff y cols, 1989; Neve y cols, 1991).

MODELO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON CON MPTP.

El descubrimiento del MPTP ocurrió de manera accidental. Se encontró que algunos jóvenes adictos a la autoadministración de heroína desarrollaron la sintomatología de la enfermedad de Parkinson en un grado avanzado (Langston y cols 1983, 1984). Estudios posteriores mostraron que la heroína utilizada por dichos jóvenes estaba contaminada con lo que ahora se conoce como MPTP. Subsecuentemente se mostró que la administración de MPTP en primates no humanos, produjo la pérdida de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra y los animales desarrollaron alteraciones motoras semejantes a los observados en los pacientes con enfermedad de Parkinson (Langston y cols, 1984; Zigmond y Stricker, 1989). Estas alteraciones se acompañaron de cambios neurológicos semejantes a los observados en los animales tratados con la 6-OHDA (Langston, 1986, 1987; Schultz y cols, 1989a, 1989b; Trevor y cols, 1987).

PAPEL NEUROMODULADOR DE LA DOPAMINA EN EL CUERPO ESTRIADO.

Con base en la manipulación farmacológica de los modelos antes descritos, se consideró que la dopamina es uno de los neurotransmisores más importantes en el control motor. No obstante y contrario a lo que se esperaba, se demostró que la actividad eléctrica de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra

compacta, no se correlaciona con el movimiento realizado por los animales. Sin embargo, se sabe que las neuronas dopaminérgicas mantienen un aporte tónico del neurotransmisor en el cuerpo estriado (Zigmond y Stricker, 1989). Estos resultados condujeron a considerar que la dopamina en el cuerpo estriado desempeña un papel modulador sobre la actividad de los neurotransmisores involucrados con el movimiento (De long y Georgopoulos, 1981; Wooten y Trugman, 1989). Por otro lado, se mostró que la actividad eléctrica de estas neuronas se incrementa cuando se presentan estímulos con un "significado motivacional" para el animal (Romo y Schultz, 1990; Schultz y Romo, 1988; 1990).

RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS.

Para entender cual es la función de los neurotransmisores en el cerebro y en particular de la dopamina en el sistema nigroestriatal, ha sido necesario desarrollar procedimientos bioquímicos fundamentados en la interacción de los receptores con un ligando radioactivo. Esto ha generado información sobre su localización neuroanatómica, reconocer algunas características de su respuesta a la manipulación farmacológica y de sus condiciones funcionales en estados patológicos (Creese y Sibley, 1981; Reisine, 1981). También ha permitido mostrar que existen dos subtipos de receptores para este neurotransmisor (Snyder y Goodman, 1980).

En el inicio de la década de 1970, varios grupos de investigación demostraron que la dopamina y algunos de sus agonistas y antagonistas, activaban a la enzima adenilato ciclasa, estimulando la conversión del trifosfato de adenosina [ATP] a monofosfato cíclico de adenosina [AMPC] (Brown y Mackman, 1972; Keibarian y cols, 1972; Iversen, 1975; Greengard, 1976). Sin embargo, también se demostró que otros agonistas y antagonistas dopaminérgicos, inhibieron dicha activación (Clement-Cormier y cols, 1974; Miller y cols, 1974; Iversen 1975, Iversen y cols, 1976; Snyder y cols, 1975). Para explicar estos datos se sugirió la existencia de dos tipos de receptores. Keibarian y Calne (1979) propusieron denominar como receptor tipo 1 (DA1) a los receptores que al ser estimulados, activan a la enzima adenilato ciclasa y como receptores tipo 2 (DA2) a los que inhiben la síntesis de AMPC [FIGURA 4].

Por otro lado, se ha propuesto la existencia de cuatro subtipos de receptores dopaminérgicos (Seeman, 1980). Sin embargo, existe el consenso de considerar que estos subtipos representan a los estados de baja y alta afinidad de los receptores DA1 y DA2 (De Lean y cols, 1982; Creese y cols, 1983; Flaim y cols 1986; Seeman y Grigoriadis, 1987).

Para definir a nivel neuronal a los receptores se han considerado dos posibilidades, los receptores presinápticos y los postsinápticos; dentro de los presinápticos, se acepta que a los

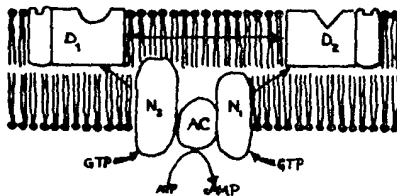


Figura4. Representación esquemática de los receptores dopaminérgicos DA1 y DA2 y su relación con la activación e inhibición de la enzima adenilato ciclasa.

que controlan la síntesis y secreción del neurotransmisor en la terminal axonal, se les denomine como receptores presinápticos y a los que controlan el flujo del impulso nervioso y que además se localizan en el soma y en las dendritas, como autorreceptores. Finalmente, los receptores postsinápticos son aquellos que se localizan en las neuronas localizadas en los sitios de proyección (Clark y White, 1987).

CARACTERISTICAS FUNCIONALES DE LOS RECEPTORES DOPAMINERGICOS.

Se sugirió que los efectos conductuales subsecuentes a la estimulación dopaminérgica, en animales con lesión unilateral de la vía nigroestriatal, se debía a que la L-DOPA, la anfetamina y la apomorfina junto con otros agonistas dopaminérgicos, estimulaban a los receptores del tipo DA2. Estos resultados se apoyaban en el hecho de que algunos antagonistas con cierta selectividad para este receptor, bloqueaban los efectos conductuales de dicha estimulación (Barone y cols, 1982). Asimismo, el uso de agonistas de los receptores DA2 produjo efectos conductuales semejantes pero de menor proporción que los producidos con apomorfina (Stoof y Keabian, 1982).

Con el desarrollo de moléculas que interactúan selectivamente con los receptores DA1, se hizo patente su participación sobre los efectos conductuales mediados por la estimulación dopaminérgica. Se observó que la estimulación de estos receptores en animales con denervación dopaminérgica unilateral, produjo

también el fenómeno de la conducta de giro (Setler y cols, 1978; Gower y Marriott, 1982).

En concordancia con lo anterior, el uso del antagonista DA1 SCH23390 inhibió la conducta de giro inducida por anfetamina y solamente indujo un decremento en la conducta inducida con apomorfina. Los efectos inducidos con la apomorfina se bloquearon solamente cuando se coadministraron antagonistas de ambos tipos de receptores (Sonsalla y cols, 1988).

Estos datos sugieren que en el lado no denervado, existe cierta interdependencia funcional entre ambos tipos de receptores y que se requiere de la activación de ambos para inducir la conducta de giro. Por lo que toca al lado denervado, la ausencia de dopamina provoca cambios funcionales que parecen disminuir dicha interdependencia. Cabe señalar que en el estriado denervado, la estimulación selectiva de cualquiera de los dos tipos de receptores, no producen una conducta de giro equiparable a la que se genera cuando se estimula a ambos tipos de receptor, lo que sugiere un actividad sinérgica entre ambos tipos de receptores (Sonsalla y cols, 1988; Walters y cols, 1987; Stoof, 1989/90; Arnt, 1987; Arnt y Perregaard, 1987).

OBJETIVOS Y PRINCIPIOS BASICOS DE LOS TRANSPLANTES AL CEREBRO

Las técnicas para realizar transplantes intracerebrales en los mamíferos, se han implementado para estudiar el desarrollo ontogenético de los núcleos que forman al sistema nervioso, para la compensación de sistemas atrofiados y para la inducción de la regeneración axonal. En estos estudios se ha utilizado como transplante al tejido proveniente de fetos, de neonatos, de adultos y de organismos seniles. Estos estudios han sido la base para considerar que el sistema nervioso central, así como algunos otros órganos, tiene ciertas características que le permiten mantener viable un tejido ajeno por largos periodos de tiempo (Baker y Billingham, 1977; Winder y Brundin, 1988). Durante los últimos veinte años su aplicación en los modelos de algunas enfermedades que ocurren en el humano, ha generado la posibilidad de compensar alteraciones conductuales o cognoscitivas.

Con la experiencia acumulada a lo largo de casi cien años se han postulado los siguientes principios básicos:

i. El procedimiento quirúrgico debe efectuarse en condiciones asépticas (Freed, 1985).

ii. Para incrementar las posibilidades de éxito de un transplante, se ha demostrado que el tiempo que se requiere desde que se hace el explante del organismo donador es crucial, también

se ha determinado que dicho periodo depende de la técnica de trasplante empleada. Así para realizar el trasplante de un bloque de tejido, ya sea a una cavidad cortical creada quirúrgicamente ó al sistema ventricular, el periodo de explante-implante debe ser menor de diez minutos. Para realizar el trasplante intraparenquimal de células disgregadas en una suspensión, el tiempo se puede alargar a un rango de horas y en el caso de involucrar una fase intermedia de cultivo de tejidos o de la criopreservación del tejido donado, el periodo se puede incrementar a semanas (Das,1985; Freed, 1985; Stenevi y cols, 1985).

iii. Se ha demostrado que la viabilidad del trasplante de tejido cerebral, es más adecuada cuando éste proviene de tejidos donde la multiplicación celular de los neuroblastos está en sus ultimos momentos y la fomación de procesos está comenzando. Se sabe que la mayoría de estos eventos ocurren durante la vida fetal, pero para algunos sistemas ésto ocurre durante los primeros días después del nacimiento (Freed, 1985).

iv. Con lo que respecta al trasplante intracerebral de órganos periféricos, las características propias de estos tejidos hacen que la limitante de la edad sea menos estricta (Gage y Björklund, 1986, Stenevi y cols, 1985; Björklund y Stenevi, 1984).

v. Se mostró que el crecimiento e integración del trasplante

intracerebral se favorece cuando éste se realiza en organismos infantiles o en juveniles. Se propuso que esto podría deberse a una cierta disponibilidad de espacio, a un aporte suficiente de nutrientes y a la presencia de sustancias neuroactivas conocidas como factores tróficos. Por otro lado, estas cualidades disminuyen en organismos maduros y aún más en organismos seniles, estas circunstancias podrían entonces limitar el crecimiento y la interacción entre el transplante y el hospedero (Freed y cols 1990).

RESPUESTA DEL CEREBRO A LOS TRANSPLANTES INTRACEREBRALES.

Con el propósito de facilitar la comprensión de la respuesta cerebral a la presencia de un transplante, es necesario definir los tipos de transplantes y los sitios donde éstos se han colocado.

Tipos de transplante.

i. Transplante autologo o autotransplante. Se define así al tejido donado que procede del mismo sujeto que recibe el implante (Freed, 1985; Winder y Brundin, 1988).

ii. Transplante singénico o isotransplante. Especifica que entre los sujetos donador y receptor las diferencias genéticas son

mínimas. Esto ocurre en organismos gemelos y más frecuentemente con la utilización de una misma raza o sepa (Freed, 1985; Winder y Brundin, 1988).

iii. Transplante homólogo o Alotransplante. Implica que el sujeto donador y el receptor son genéticamente diferentes, pero de la misma especie (Freed, 1985; Winder y Brundin, 1988).

iv. Transplante heterólogo o Xenotransplante. Define que la especie del sujeto donador es diferente de la del receptor (Freed, 1985; Winder y Brundin, 1988).

Sitio de colocación del transplante.

i. Transplante homotópico u ortotópico. Especifica que la ubicación entre el sitio de explante del tejido en el donador y el sitio de implante en el hospedero es similar (Freed, 1985; Winder y Brundin, 1988).

ii. Transplante heterotópico. Implica que el tejido donado se implante en el hospedero en cualquier región diferente al sitio homólogo (Freed, 1985; Winder y Brundin, 1988).

CARACTERISTICAS QUE FAVORECEN LA SOBREVIVENCIA DE UN TRANSPLANTE.

Se ha mostrado que los trasplantes de tejido homólogo y heterólogo implantado en el cerebro, fueron menos susceptibles de rechazo que cuando fueron colocaron en otras partes del cuerpo. A la fecha las explicaciones propuestas para este fenómeno son: La presencia de la barrera hematoencefálica, la que al parecer impide el acceso a los mediadores inmunológicos humorales, así como a los linfocitos; la no expresión de los antígenos de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad en el tejido cerebral (Hart y Fabre, 1981) así como el bajo nivel de expresión de los antígenos de la clase I (Pollack y cols, 1990).

Barrera hematoencefálica.

Para definir que es la barrera hematoencefálica es necesario mencionar que el concepto surge de los trabajos de Goldmann en 1909, en los que mostró que parte de la masa cerebral no se tiñe después de la inyección intravenosa de azul de tripano.

Posteriormente se mostró que los capilares sanguíneos inherentes al sistema nervioso, presentan algunas diferencias con respecto a la constitución morfológica de los vasos sanguíneos propios de otras regiones del cuerpo. Estas características son

que las células endoteliales que constituyen a los vasos sanguíneos cerebrales están superpuestas unas con otras y que entre estas células existen uniones estrechas, fenómeno que no se presenta en órganos periféricos, asimismo, los vasos sanguíneos cerebrales están recubiertos por una membrana derivada de los astrocitos. Otra diferencia radica en la ausencia de fenestraciones en las paredes de los vasos sanguíneos cerebrales, característica que sí se observa en los órganos periféricos.

Cabe hacer notar que en regiones cerebrales tales como el área postrema, eminencia media, glándula pineal y los plexos coroideos, los vasos sanguíneos presentan características semejantes a las observadas en otros órganos del cuerpo.

Desde el punto de vista funcional la presencia de la barrera hematoencefálica permite mantener al cerebro aislado de sustancias que pueden ser dañinas para las neuronas. Asimismo la barrera evita que el cerebro sea expuesto a la mayoría de los virus; también regula el aporte de sustancias precursoras de algunos neurotransmisores, un ejemplo clásico es el de la L-DOPA que es el precursor de la dopamina, ya que la presencia en las células endoteliales de los capilares cerebrales de la enzima dopa-descarboxilasa, evita el paso excesivo de dicho precursor al transformarlo en dopamina, la cual no puede cruzar la barrera.

Ahora bien, se sabe que después de realizado un transplante

al cerebro, los vasos sanguíneos inherentes al tejido huésped se anastomosan con los vasos sanguíneos del hospedero, esta fusión es más evidente en las regiones que delimitan a ambos tejidos (Takei y cols, 1990; Broadwell y cols, 1991). Este fenómeno provocó entonces que las características morfológicas y de permeabilidad de los vasos sanguíneos que irrigaron al trasplante, fueran finalmente determinadas por éste (Broadwell y cols, 1991). En concordancia con esto, se observó que después de realizado un trasplante de tejido cerebral, las características de la barrera hematoencefálica se restablecieron en un periodo de cinco a doce días. Se sabe que en los mamíferos las características de la barrera hematoencefálica existen desde antes del nacimiento, incluyendo la ausencia de impermeabilidad en la superficie del espacio subaracnoideo y en las paredes del sistema ventricular. Asimismo, el restablecimiento de la barrera ocurrió después de una lesión que interrumpió la conectividad los vasos sanguíneos en el parénquima cerebral (Takei y cols, 1990; Broadwell y cols, 1991).

Por otro lado, se mostró que en los trasplantes de tejido extracerebral y en los bordes con el tejido hospedero que los rodearon, las características de la barrera hematoencefálica no se restablecieron durante el periodo que duro cada estudio (Broadwell y Brightman, 1976, Broadwell y cols, 1990; Takei y cols, 1990).

Antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad

Una propiedad del sistema inmune es la capacidad para distinguir lo que es ajeno de lo que es propio, esta discriminación se establece a partir de los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad. Las clases I y II de este complejo son glicoproteínas de membrana, que por presentar un alto grado de polimorfismo, determinan las diferencias interindividuales (Winder y Brundin, 1988; Finsen y cols, 1990; Pollack y cols, 1990; Sloan y cols, 1990)

Se había postulado que las clases I y II de dicho complejo no se expresaban en el tejido cerebral. Sin embargo, en 1986 Mason y cols demostraron que ambas clases pueden ser inducidas a expresarse en trasplantes de tejido cerebral. Takei y cols (1990) publicaron que las células endoteliales de los vasos sanguíneos y los astrocitos del tejido cerebral transplantado expresan los antígenos de la clase II ocho días después de realizado el trasplante.

Aún cuando se han realizado avances importantes en el conocimiento de la respuesta del cerebro a la presencia de un tejido ajeno, estos datos son insuficientes para poder explicar el por qué un trasplante intracerebral se mantiene viable por largos periodos de tiempo en algunos animales y por qué no sobrevive en otros.

**TRANSPLANTES DE TEJIDO CATECOLAMINERGICO EN
LA CONDUCTA DE GIRO.**

Como ya se señaló en la sección de los modelos de la enfermedad de Parkinson, la destrucción unilateral de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra con 6-OHDA en la rata, provoca que el número de receptores dopaminérgicos estriatales del tipo DA-2 se incremente como respuesta a la carencia de dopamina. Esta alteración crea un desequilibrio motor permanente que puede ser evaluado con drogas que interactuen con el sistema dopaminérgico. Así cuando se administra la anfetamina, droga que favorece la secreción de la dopamina en los sitios de proyección y prolonga la permanencia del neurotransmisor en el espacio sináptico, se induce el giro ipsilateral. En tanto que, cuando se administra drogas que activen a los receptores dopaminérgicos postsinápticos, se induce el giro contralateral.

Con esta preparación se demostró que una infusión crónica de dopamina en el estriado denervado, produce un decremento temporal en la conducta de giro inducida con apomorfina. Algo semejante ocurrió cuando se administró crónicamente al precursor de la dopamina, la L-DOPA. (Hargraves y Freed, 1987).

Dado que en este modelo la alteración sensoriomotora no se compensa de manera espontánea, si la denervación depleta más del 95% de la dopamina estriatal, se planteó evaluar los efectos de los transplantes intracerebrales utilizando como tejido donador a

la substancia nigra fetal ó a la médula adrenal. El transplante se colocó ya sea en una cavidad artificial en las regiones dorsal o lateral del cuerpo estriado denervado, en el ventriculo lateral adyacente ó en el parénquima estriatal.

Con estos estudios se demostró que tanto la substancia nigra fetal como la médula adrenal, tienen la capacidad de inducir un decremento en la conducta de giro inducida con anfetamina o por apomorfinina y a diferencia del decremento inducido farmacológicamente, los efectos se mantuvieron a largo plazo. Sin embargo existen diferencias morfológicas y funcionales entre estos tipos de transplante.

TRANSPLANTES DE SUBSTANCIA NIGRA FETAL.

Antecedentes.

Los primeros reportes del efecto compensatorio de los transplantes de substancia nigra fetal fueron publicados en 1979. Perlow y cols colocaron el transplante en el ventriculo lateral adyacente al estriado denervado, en tanto que Björklund y Stenevi lo colocaron sobre el estriado en una cavidad cortical. Estos reportes han dado lugar a un considerable número de trabajos en los que además de confirmar los resultados de 1979, también generaron la información que a continuación se expone.

Se demostró que la edad adecuada para hacer el explante de substancia nigra fetal, es entre los 14 y 16 días de edad gestacional (Freed y cols, 1980, 1983a; Freed, 1985; Björklund y cols, 1980; 1985; Dunnett y cols, 1981a, 1981b; 1988; Björklund y Stenevi, 1984; Simonds y Freed, 1990).

Características funcionales y especificidad.

Los efectos conductuales compensatorios parecen ser inducidos específicamente por el trasplante de neuronas dopaminérgicas, ya que dichos efectos se revirtieron después de que se removió al trasplante (Björklund y cols, 1980; Brundin y cols, 1985; 1988), además de que dichos efectos no se han inducido con otras estructuras neuronales como la corteza cerebral, el tectum, el nervio ciático, el cuerpo estriado o con los núcleos del rafe (Freed y cols, 1983a; Dunnett y cols, 1988). Se mostró que dicha compensación conductual fué el resultado de la sobrevivencia de las neuronas dopaminérgicas después de realizado el trasplante y del área que éstas reinervaron en el cuerpo estriado (Björklund y cols, 1987; Dunnett y cols, 1987; Brundin y cols, 1988; Zuddas y cols, 1990).

Características intrínsecas de las neuronas dopaminérgicas transplantadas.

Los mecanismos de recaptura de catecolaminas en las neuronas

dopaminérgicas después de ser transplantadas se conservan y la tasa de recambio se incrementa casi al doble de lo que ocurre en el sistema nigroestriatal intacto (Schmidt y cols, 1983; Zeterström y cols, 1986; Strecker y cols, 1987; Doucet y cols, 1989). Esto al parecer permitió que se restableciera el aporte de dopamina a un nivel cercano al normal en las áreas adyacentes al trasplante, en tanto que en las áreas alejadas al mismo el aporte se mantuvo disminuido (Brundin y cols, 1988; Meloni y Gale, 1990).

Se sabe que en la rata intacta, los antagonistas dopaminérgicos inducen un incremento del metabolismo dopaminérgico, en el cuerpo estriado y en la sustancia nigra; mientras que los agonistas provocaron un decremento en el estriado sin afectar a la sustancia nigra (Fadda y cols, 1977; Argiolas y cols, 1982; Nissbrandt, 1989). Se mostró que en estos trasplantes y en las áreas estriatales que les rodean, el metabolismo dopaminérgico se incrementa en respuesta al bloqueo de los receptores dopaminérgicos (Meloni y cols, 1988).

Reconstrucción del sistema nigroestriatal.

En 1983, Björklund y cols mostraron que el trasplante homotópico de sustancia nigra no reinerva al cuerpo estriado denervado; el mismo año Dunnett y cols demostraron que este tipo de trasplante no tuvo efectos compensatorios sobre la conducta de

giro inducida farmacológicamente.

Por otro lado, Gage y cols en 1985 reportaron que el trasplante de substancia nigra colocado en una cavidad cortical sobre el colículo superior, reinervó parte del cuerpo estriado a través de un fragmento de nervio ciático. Estos trasplantes mostraron tener efectos compensatorios significativos sobre la conducta de giro inducida por anfetamina y dichos efectos se revirtieron después de que seccionaron el fragmento de nervio ciático que conectaba al trasplante con el estriado. Con este antecedente, Dunnett y cols (1989) intentaron promover la reinervación dopaminérgica del estriado desde el mesencéfalo ventral, a través de puentes de tejido estriatal fetal; de astrocitos o de laminina. Sus resultados mostraron que los trasplantes homotópicos sobrevivieron, pero no se indujeron efectos compensatorios sobre la conducta de giro con ninguno de los puentes utilizados. No obstante, cuando analizaron los efectos individuales encontraron tres casos de siete, en los que el implante de tejido estriatal indujo una reducción global del 44% en la conducta de giro inducida con anfetamina, en estos animales también se detectó una reinervación parcial del cuerpo estriado.

Se ha demostrado que en cultivo las neuronas de la substancia nigra sobrevivieron en mayor número, cuando se cultivaron con tejido estriatal fetal. Lo mismo ocurrió cuando se agregó al medio de cultivo el factor neurotrófico derivado del cerebro. Se sabe

que este factor también es sintetizado en el cuerpo estriado. Así se ha sugerido que existe cierta actividad neurotrófica específica del cuerpo estriado sobre las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra (Hoffmann y cols, 1983; Tomozawa y Appel, 1986; Dal Toso y cols, 1988; Hyman y cols, 1991).

Es posible esperar que con el diseño experimental desarrollado por Dunnett y cols (1989), utilizando el factor neurotrófico derivado del cerebro, se genere un restablecimiento mayor del sistema nigroestriatal.

TRANSPLANTES DE MEDULA ADRENAL.

Antecedentes.

Se ha propuesto el uso de otros tejidos que sintetizan y secretan catecolaminas, como alternativas al uso de la sustancia nigra fetal, de éstos el más utilizado es la médula adrenal.

Las células cromafines tienen la capacidad de sintetizar y secretar catecolaminas, además de encefalinas, neuropeptidos y otros factores tales como el factor básico de crecimiento de fibroblastos (Freed y cols, 1990; Kordower y cols, 1990; Otto y Unsiker, 1990). Asimismo, cuando se explantan de la glándula y se

mantienen en condiciones de cultivo o se transplantan a la cámara anterior del ojo, cambian de una forma esférica a algo que se parece a una neurona, estos cambios son más evidentes cuando se agrega en el medio de cultivo ó cuando se infunde en la cámara ocular al factor de crecimiento nervioso (NGF). Algo semejante ocurre con la adición del factor neurotrófico ciliar o cuando se co-cultivan con células tumorales del glioma C6 (Unsicker y cols, 1978, 1982, 1984, 1985; Doupe y cols, 1985).

El primer reporte del efecto compensatorio del trasplante de médula adrenal en el modelo de la conducta de giro, se publicó en 1981 por Freed y cols y desde entonces ocurrió algo parecido a lo que sucedió con los trasplantes intracerebrales de sustancia nigra.

Características funcionales de los trasplantes de médula adrenal.

Se mostró que los trasplantes intraventriculares de médula adrenal no reinervan al cuerpo estriado, ésto dió lugar a la sugerencia de que estos trasplantes funcionan de manera inespecífica y que las sustancias neuroactivas secretadas por estos, podrían estar siendo drenadas por el sistema ventricular. Analizando el aporte de catecolaminas en el líquido cefalorraquídeo de ratas con trasplante intraventricular de médula adrenal, Baker y Freed no detectaron dopamina, aunque sí un incremento de sus

metabolitos. Curiosamente en el plasma sanguíneo encontraron un incremento en la concentración de dopamina, incremento que se correlacionó con la compensación conductual. Con base en este resultado los autores sugirieron que la dopamina podría estar afectando al estriado denervado por vía sanguínea. Sin embargo, no excluyen la posibilidad de que en el líquido cefalorraquídeo exista también un aporte dopaminérgico (Baker y Freed 1988a, 1988b).

El incremento de catecolaminas en el plasma sanguíneo reportado por estos autores, se puede explicar con base en el hecho de que los vasos sanguíneos del trasplante se anastomosan con los vasos sanguíneos del cerebro hospedero (Pappas y Sagen, 1988; Broadwell y cols, 1990; Takei y cols, 1990).

Se ha observado que en las ratas en las que el trasplante intraventricular de médula adrenal indujo un decremento en la conducta de giro, la dopamina, substancia que no atraviesa la barrera hematoencefálica, tuvo acceso al cerebro en las áreas adyacentes al trasplante. Este fenómeno no lo observaron en la mayoría de los animales en los que el trasplante no ejerció efecto alguno (Rosenstein, 1987; Baker y cols, 1990a, 1990b). En concordancia con esto, Ahlskog y cols (1989) reportaron que en pacientes que recibieron el trasplante de médula adrenal, describen un fenómeno semejante con la carvidopa.

De estos datos se ha sugerido que la eficiencia de este tipo

de trasplantes depende en parte de que las células cremafines sobrevivan después de ser trasplantadas y que la barrera hematoencefálica se rompa (Freed y cols, 1990).

El trasplante unilateral de médula adrenal, induce un incremento en el aporte de dopamina y de ácido dihidroxifenilacético, en el estriado denervado adyacente al trasplante, en tanto que en el estriado contralateral induce el efecto contrario. Para explicar estos resultados se propuso, que el trasplante podría estar induciendo un efecto trófico sobre el cerebro hospedero. (Baker y cols, 1990a, 1990b).

Sin embargo, esta propuesta es poco aceptable, por el hecho de que es difícil explicar cómo un efector trófico induce un incremento en el estriado ipsilateral y un decremento en el estriado contralateral (Freed y cols, 1990).

Una segunda posibilidad es que los cambios en el estriado contralateral al trasplante estén relacionados con un mecanismo de retroalimentación que involucra a los circuitos neuronales entre ambos hemisferios. En apoyo a esta hipótesis se puede citar que en animales intactos, la inducción del incremento en la actividad dopaminérgica en uno de los estriados, se acompaña de un decremento de la actividad del neurotransmisor en el estriado contralateral (Nieouillon y cols, 1977; Cheramy y cols, 1981).

Herrera-Marschitz y cols, (1984) y del mismo grupo Strömberg y cols (1984) reportaron que la mayoría de las células cromafines de rata adulta, mueren a las pocas horas después de ser implantadas en el parénquima del estriado denervado, pero durante este tiempo se produjeron efectos conductuales que según los autores se debieron a la secreción de catecolaminas en el transplante. Un año después Strömberg y cols, reportaron que la infusión intraparenquimal del factor de crecimiento nervioso, favoreció la sobrevivencia y el efecto conductual compensatorio de las células cromafines transplantadas. Entonces se sugirió que la baja viabilidad de las células cromafines transplantadas en el parénquima, podría deberse a que en el estriado existe un aporte deficiente del NGF. Sin embargo, esto no excluye que también se deba a un bajo aporte de nutrientes, la acumulación de sangre y la compresión de las células transplantadas en el parénquima (Korsching y cols, 1985; Freed y cols, 1990).

Por otro lado, Pezzoli y cols (1988) reportaron que los trasplantes intraventriculares de tejido adiposo o de nervio ciático, combinados con el factor del crecimiento nervioso, indujeron efectos compensatorios conductuales equiparables a los producidos por el transplante de médula adrenal. Los autores sugirieron que el factor de crecimiento nervioso actuó en conjunto con la respuesta del tejido hospedero para producir un efecto trófico sobre el cerebro.

Si esta hipótesis fuese cierta, entonces se podría esperar que cualquier tipo de tejido combinado con la infusión del factor de crecimiento nervioso, producirá efectos compensatorios.

Otra explicación radica sobre los efectos que tienen los trasplantes de tejido no cerebral sobre la barrera hematoencefálica, Así se propuso que el efecto compensatorio podría haber sido originado extracerebralmente en el organismo hospedero. Sin embargo, si esta hipótesis fuese cierta, entonces cualquier órgano periférico transplantado intracerebralmente debería tener un efecto compensatorio equiparable a los reportados por los diversos grupos de investigación. Dada la evidencia que existe en torno a la especificidad de los efectos conductuales compensatorios y a la carencia de efectos con nervio ciático, tejido adiposo e incluso trasplantes de tejido adrenal tanto fetal como adulto, en el que la cantidad de células cromafines sobrevivientes es baja, dan pauta para considerar que esta hipótesis es falsa.

Freed y cols (1983, 1985), mostraron que el trasplante de tejido dopaminérgico, colocado en el ventrículo lateral adyacente al estriado denervado, indujo un decremento en la densidad de receptores dopaminérgicos DA2 estriatales. Estos resultados sugieren que son los receptores dopaminérgicos estriatales uno de los sitios donde tienen efecto los trasplantes dopaminérgicos. Estos resultados fueron corroborados con el trasplante

intraparenquimal por Dawson y cols en 1991.

Efectos terapéuticos de los trasplantes en pacientes con enfermedad de Parkinson

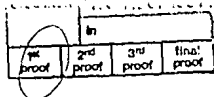
El uso clínico de los trasplantes intracerebrales se remonta a 1985, cuando en Suecia, Backlund y cols reportaron resultados negativos en dos pacientes con enfermedad de Parkinson. No obstante, dos años después en México, se reportaron resultados que provocaron el escepticismo de los "expertos en materia de trasplantes" (Madrado y cols, 1987; Drucker-Colín y cols 1988). Sin embargo, efectos similares fueron reportados después por algunos expertos (Lindvall y cols, 1987; Björklund y cols 1990; Hirsch y cols, 1990).

Aún cuando la investigación del efecto de los trasplantes ha continuado, a la fecha no existen datos irrevocables acerca de los mecanismos de acción de los trasplantes intracerebrales de tejido catecolaminérgico. No obstante, es probable que uno de estos sea mediado por un aporte catecolaminérgico derivado del trasplante, lo que involucra la sobrevivencia de estos tipos celulares después de realizado el mismo, por otro lado las evidencias también apoyan la participación de efectos tróficos.

OBJETIVO

Con el propósito de descubrir como es que los trasplantes unilaterales tienen efectos a nivel bilateral, en el laboratorio del Dr Drucker Colín hemos demostrado que el trasplante fetal de sustancia nigra o de médula adrenal, colocado en el ventrículo lateral del lado no lesionado, ejerce efectos compensatorios semejantes a los observados con el trasplante ipsilateral (Drucker-Colin y cols, 1990;). Con estos resultados sugerimos que el trasplante de tejido catecolaminérgico podría estar induciendo un decremento en la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos estriatales en el estriado denervado. Con este antecedente, el objetivo del presente trabajo de tesis, fue determinar si los efectos compensatorios de los trasplantes de tejido dopaminérgico, colocado en el lado contralateral a la denervación estriatal con 6-OHDA, son mediados por un decremento en la densidad de receptores dopaminérgicos en el estriado denervado.

Las secciones de material, métodos, resultados y parte de la discusión, se encuentran en el artículo que a continuación se anexa.



RESTOR 00102

Fetal substantia nigra and adrenal medullary grafts placed contralateral to the nigrostriatal lesion side induce a decrease in turning behavior but not in dopamine receptor density

José-Luis Mendoza-Ramírez, Raúl Aguilar-Roblero, Antonio Zainos-Rosales and René Drucker-Colín

Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (México)

(Received 5 February 1991)

(Revised version received 2 July 1991)

(Accepted 2 July 1991)

Key words: Nigrostriatal pathway; Graft; Dopamine; Adrenal medulla; Substantia nigra; Autoradiography

Abstract

Motor asymmetries as well as changes in the density of postsynaptic dopamine receptors produced by unilateral denervation of the striatum have been reduced by both substantia nigra (SN) and adrenal medullary (AM) grafts. Since to this date all studies have placed the grafts on the side ipsilateral to the lesion, the purpose of this study was to determine whether similar effects can be obtained when grafts are placed contralateral to the denervated side.

The results of this study showed that 6-hydroxydopamine-lesioned rats followed up to 150 days with contralaterally placed intraventricular fetal substantia nigra grafts and fetal adrenal medulla grafts have a reduction of turning behavior of 41% and 34% respectively. However, contrary to ipsilateral grafts no normalization of dopamine receptor density as measured by [³H]spiperone autoradiography was observed 6 months after SN grafts, however, after AM grafts normalization did occur except in the anterior portion of the striatum. These results suggest that the compensatory motor changes induced by the grafted tissues could be mediated by mechanisms unrelated to changes in receptor density.

Introduction

Since Björklund et al. [5] and Perlow et al. [31] first reported the usefulness of neuronal grafting in reducing motor asymmetries produced by unilateral 6-hydroxydopamine (6-OHDA) lesions of the nigrostriatal system [36], a great number of studies have replicated and confirmed these original observations [6,14,15,19,28,29,34,37]. Although the precise mechanisms whereby the grafts induce such changes in motor behavior remain unclear, one of the most widely accepted possibilities is that grafts reduce denervation

supersensitivity by normalizing postsynaptic dopamine receptor density in the striatum as a result of dopamine release by the grafts [3,7,13,19,20]. However, recently it has been reported [32] that transplants of non-dopamine containing tissues, in this case adipose tissue, in conjunction with intraventricular infusion of nerve growth factor (NGF) is just as effective in reducing apomorphine-induced rotation. Very relevant to this study is the observation [4] that grafted adrenal medullary tissue into the striatum of MPTP-treated mice induced several weeks after transplantation dense TH-immunoreactive fiber plexi on the grafted side and none on the ungrafted side. The latter studies suggest that trophic factors may play a major role in graft-induced recovery of motor functions in 6-OHDA-lesioned animals.

Correspondence: R. Drucker-Colín, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-600 04510 México, D.F. México

Perhaps pertinent to this suggestion is the interesting original observation [11], confirmed later by others [1,35], that in clinical trials patients having received unilateral grafts for relief of Parkinson symptoms, show bilateral improvements. To this date all studies of transplants of tissues in 6-OHDA-lesioned animals have placed the grafts on the side ipsilateral to the lesion. The present study is the first to report on the effects of grafts placed on the side contralateral to the lesion on motor behavior and on postsynaptic dopamine receptor density.

Materials and Methods

Male Wistar rats were housed under a 12:12 dark/light cycle with food and water provided ad libitum. All surgical procedures were carried out under aseptic conditions. The animals were anesthetized with halothane (0.8% in a mixture of 95/5% O₂/CO₂). At the end of the surgery rats received 200,000 IU of benzatinic penicillin.

Surgical procedures and behavioral testing

Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway was made by stereotaxic injection of 6-OHDA (8 µg/4 µl in 0.9% NaCl added with 0.5% ascorbic acid) into the left medial forebrain bundle. The rate of injection was 1 µl/min and the cannula was left in place for an additional 2 min in order to avoid "diffusion" of the drug through the cannula tract [12,31]. Stereotaxic coordinates were: 3.5 mm anterior from the interaural line; 1.5 mm lateral from the sagittal suture and 8.8 mm below the skull surface. The incisor bars were placed 2.4 mm below the interaural line [26]. The animals weighted between 180 g and 200 g at the time of surgery.

In order to evaluate the degree of striatal denervation, the animals were tested 10 days after surgery by scoring the number and direction of turns during 30 min after an i.p. injection of 0.25 mg/kg of apomorphine. Only those animals that showed a constant rate of circling behavior with more than 200 complete turns contralateral to the lesioned side were selected for this study according to the criteria utilized by several authors [6,12,36]. It has been previously demonstrated that more than 100 contralateral turns during the 30 min following apomorphine administration, is correlated with at least 97% striatal denervation from dopaminergic fibers originating in the ipsilateral pars compacta of the substantia nigra [10,21,36].

Those animals which reached the above-mentioned criteria of number of turns were tested again as previously described up to 30 days after the lesion through 3 tests 10 days apart in order to establish the

baseline for circling behavior. Thirty such animals were then randomly assigned to the following groups: in group A (sham group) the animals (n = 8) received an injection of sterile saline solution (NaCl 0.9%); in group B (AM group) the animals (n = 11) were grafted with a piece of fetal adrenal medullary gland; in group C (SN group) the animals (n = 11) were grafted with a piece of fetal substantia nigra. In all cases, the grafted tissue (or vehicle) was stereotaxically placed in the lateral ventricle contralateral to the lesioned side. The total volume administered ranged from 30 to 50 µl. The grafted tissue was obtained from E-16 (± 1 day) fetuses as follows: pregnant rats were anesthetized with chloral hydrate (400 mg/kg), the uterus was exposed and each fetus was extracted at the time of transplantation. For animals in group B, the adrenal glands were dissected and placed in sterile saline solution. Under the stereomicroscope, the cortical adrenal tissue was carefully removed and both adrenal medullae were simultaneously injected into the host ventricle. For animals in group C, the fetal brain was extracted and placed in sterile saline solution. The ventral portion of the mesencephalic primordia containing the substantia nigra^{del} from both sides was dissected under a microscope and injected into the host brain. In all cases the procedure was completed in less than 5 min from the time of incision of the uterus. The cardiovascular stability of the pregnant rat was continuously monitored throughout the experiment. No more than 8 fetuses were used from each donor. The behavioral tests were repeated as described, (number of rotations following apomorphine injections) at 15 day intervals up to 5 months after the grafts. At the end of the behavioral test the animals from each group were sacrificed for either immunohistochemical or dopamine receptor autoradiography.

Histological evaluations

For the immunohistochemical procedure, 4 animals from each group were perfused transcardially with 250-300 ml of 0.9% NaCl added with heparin (1000 µl) followed by 250 ml of Somogy fixative (4% paraformaldehyde, 1.5% picric acid in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.2). The brain was removed and postfixed 4 h in the fixative, then placed in sucrose solutions of increasing concentrations.

Serial coronal sections 40 µm thick were obtained from each brain in a cryostat, 4 sets of slices were collected in 9% NaCl in phosphate buffer (0.1 M, pH 7.2). One set of sections was processed for Nissl staining with Cresyl violet, the remaining sets were processed for immunohistochemistry by the avidin-biotin-peroxidase complex method of Hsu [22]. Briefly, each set of sections was incubated at 4° C in the primary

antibody 1:2000 during 36 h, the antibodies were raised in rabbit against tyrosine hydroxylase (TH) (Eugene Tech), dopamine β -hydroxylase (DBH) (Eugene Tech) and glial fibrillary acid protein (GFAPXInstar). The sections were then washed and incubated at room temperature in goat anti-rabbit IgG (1:200) for 2 h, washed and then incubated in the avidin-biotin complex for 2 h. The antibody complex was visualized by oxidation of diaminobenzidine in the presence of H_2O_2 . The sections were mounted in gelatin-coated slides, dehydrated into ethanol, cleaned with xylene and coverslipped with Permount.

Receptor autoradiography

For dopamine receptor autoradiography the 4 animals from each group were decapitated and the brain was removed and frozen in isopentane at $-30^\circ C$. Serial coronal sections $20 \mu m$ thick from the striatum, cut in a cryostat, were then mounted onto gelatin-coated slides. The slides were kept in a humidity free box at $-70^\circ C$. After 5 days the sections were thawed at room temperature and preincubated in Tris buffer (Tris-HCl 50 mM, pH 7.2, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, $CaCl_2$ 2 mM, $MgCl_2$ 1 mM, ascorbic acid 1 mM and bovine serum 1%). The sections were then incubated for 1 h at $36^\circ C$ in Tris buffer containing 0.3 nM [3H]spiperone (70–100 Ci/mM), 40 nM ketanserin was added to the solution in order to block the spiperone binding to serotoninergic receptors [25]. Non-specific binding was determined by incubating adjacent sections in the same solution as the one previously described adding $1 \mu M$ (+)-butaclamol. After incubation the sections were washed twice in Tris-buffer at $4^\circ C$ during 5 min and then rinsed in distilled water at $4^\circ C$ for 10 s. The slides were air-dried and stored for 3 h in a desiccator containing silica-gel. Autoradiograms were obtained by exposing the slides (together with precalibrated tritium microscalers) to X-ray sensitive film for at least 10 days. The film was then processed with Kodak GBX developer and fixed.

Dopamine receptor density was determined by densitometry using the MCID imaging analysis system (Imaging Res. Inc.). Specific binding was calculated by subtracting non-specific from total binding autoradiograms. The optical density lectures were automatically converted to nCi/mg protein by calibrating the lectures to the standards for each particular film. The data is expressed in fmol/mg protein by the ratios between the radioactivity lecture and the specific activity of the radioactive ligand.

For each animal using the Paxinos and Watson [30] atlas the sections were divided into anterior caudate contained within coordinates 1.3 to 0.48, middle

caudate within coordinates 0.48 to -0.30 and caudal caudate within coordinates -0.30 to -1.3 . From each animal approximately 24 slices of anterior caudate, 24 of middle caudate and 12 of caudal caudate were analyzed.

Results

In all the groups in this study by day 30 after the lesion the intraperitoneal administration of apomorphine induced a mean greater than 300 turns/30 min (group A: 341.8 ± 66.6 ; group B 348 ± 73.7 ; group C 413 ± 94). These values were used as baseline for circling behavior as illustrated in Fig. 1, and did not show any statistical differences between them as estimated by a one-way ANOVA. In contrast at 150 days after transplantation groups B and C showed a decrease in circling behavior in comparison to group A. The one-way ANOVA followed by the Scheffe contrast test indicated that such differences were statistically significant at $P < 0.001$ ($F = 10.09$). No differences were detected between groups B and C. The previous observations were confirmed by comparing the number of turns before and at 150 days after transplantation for each group by a paired *t*-test (group A: $t = 0.76$, n.s.; group B: $t = 2.30$, $p < 0.05$; group C: $t = 6.45$, $P < 0.001$).

The temporal course of the changes in turning behavior induced by the transplants are shown in Fig. 1. The Scheffe analysis of the sham group indicated no significant changes in circling at any point in time. In

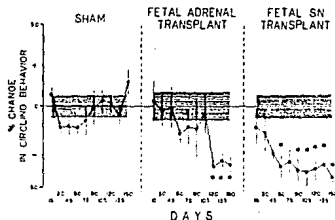


Fig. 1. Illustration of the percent change over time in turning behavior induced by apomorphine (0.25 mg/kg i.p.) for the 3 groups. The average from the last test session before the graft was taken as the basal line 0. The shaded areas represent the standard deviation. Non-significant variations occurred in the sham-group over time; however, in the adrenal transplant group a significant ($P < 0.05$) decrease in circling behavior was observed by day 120 and by day 60 in the substantia nigra transplant group ($P < 0.01$).

group B, however, the adrenal graft produced significant decrease in circling behavior beginning at 120 days after the grafts ($F = 2.04, P < 0.05$). On the other hand, in group C, the substantia nigra grafts produced significant decreases in circling behavior two months earlier, that is by day 60 ($F = 1.92, P < 0.05$).

In all lesioned animals, immunohistochemical analysis of cells and fibers containing TH-LI showed on the

lesioned side almost complete absence of dopaminergic neurons in the SN as well as denervation of the striatum from dopaminergic fibers. No evident changes were found on the side contralateral to the lesion (see Fig. 2). The placement of the grafts on the side contralateral to the lesion can be seen also in Fig. 2A (SN) and Fig. 2B (AM). TH-LI is evident in both cases (arrows). Immunohistochemical staining of TH-LI and DBH-LI

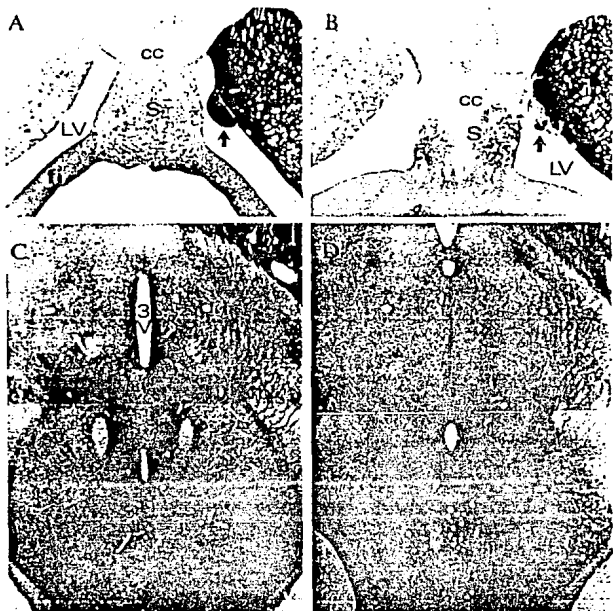


Fig. 2. Microphotographs showing TH-LI in horizontal sections. The substantia nigra graft in A and adrenal medulla in B (arrows) and the non-denervated striatum (CPu) show positive immunoreactivity. In contrast, the denervated striatum does not. C and D show the effects of 6-OHDA in the nigrostriatal dopamine system contralateral to where the animal received SN and AM grafts. On the unlesioned side the medial forebrain bundle (mfb), substantia nigra pars compacta (SNc) and ventral tegmental area (VTA) show immunoreactivity. In contrast, on the lesioned side almost all TH-positive cells disappeared. S, septum; Fi, fimbria hippocampus; cc, corpus callosum; 3V, 3rd ventricle; mfb, medial forebrain bundle; SNr, substantia nigra pars reticulata.

showed abundant dopaminergic neurons (positive to TH and negative to DBH-LI) within SN-grafted tissues. Most neurons were round or oval shaped giving rise to fine fiber plexi within the grafts (Figs. 2A and 3A, C). Only a few fibers from the graft were found invading

the host striatum and were difficult to follow within the host tissue because of the high density of dopaminergic fibers from the host striatum. A dopaminergic fiber plexus probably originating from the grafted tissue was often found on the ventricular side of the ependymal

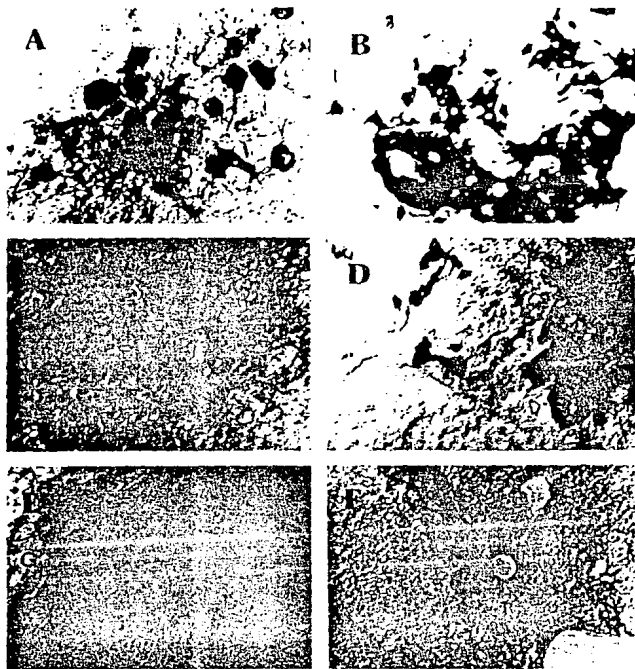


Fig. 3. Microphotographs showing TH-LI cells within substantia nigra and adrenal medulla grafts. A and C: tyrosine-hydroxylase-positive cells within substantia nigra grafts B and D: some chromaffin cells change their spherical shape resembling neuronal morphology (arrows), and processes containing TH immunoreactivity (D); E: moderate GFAP-LI reaction within the substantia nigra graft (G) and to a lesser degree within the surrounding areas of the host striatum (H). Arrows show the interface between graft-host tissue. In contrast to substantia nigra grafts, GFAP-positive reaction was intense around adrenal grafts (G) and host (H) striatum as can be seen in F.

cells surrounding the graft and the adjacent ventricular wall of the host. In SN grafts GFAP-LI was found scattered throughout the graft despite the fact that no evident scar tissue was observed (Fig. 3E).

In adrenal medullary grafts immunohistochemical staining of TH and DBH showed abundant clusters of round-shaped cells lacking fiber processes. Some cells, however, were polyhedral and gave rise to short thick processes within the graft's boundaries (Fig. 3B, D). Both types of cells co-existed within the grafts and were observed in both cases. GFAP-LI was found on both sides of the host-graft interface forming a dense glial scar encapsulating the grafted tissue (Fig. 3B).

In all the grafted cases the Nissl-stained material showed survival of the grafted tissue with no signs of rejection or chromatolytic changes.

Three animals from group B and 3 animals from group C showed no changes in circling behavior even 150 days after the transplants, therefore showing motor behavior almost identical to the sham group A (data not shown). Upon histological examination of the brains of these animals it was observed that although the grafted tissues remained viable, there were a very scarce number of TH and DBH immunoreactive cells. In fact, in two ineffective grafts of group B and one of group C we found no immunoreactivity at all.

The results from the [³H]spiperone autoradiography experiments are summarized in Table I. In the intact animals (C) the mean specific binding between right and left striata was 3% (n.s.). There were also no regional differences when anterior medial and caudal portions of the striata were analyzed. On the other hand, 6 months after the lesion in the sham group there was a 14.9% difference between left and right and this was significant

($t = 10.35$; $P < 0.005$). When regional differences were analyzed the major difference was found in the anterior portion. In relation to the AM-grafted group, a significant difference between left and right striata was only found in the anterior portion ($t = 3.44$ $P < 0.01$). On the contrary in the SN grafted group, significant total as well as regional differences between right and left striata was found (see Table I).

Fig. 4 shows actual microcomputer images of autoradiograms from the sham and grafted animals.

Discussion

The present results demonstrate that transplantation of catecholaminergic fetal tissue is able to induce a significant reduction of apomorphine-induced turning behavior, even when placed contralateral to the previously denervated striatum. The amount of reduction in turning behavior found in this study (41% in the SN group and 34% in the AM group), however, is slightly smaller than the one observed when the grafted tissues are placed in the ventricle ipsilateral to the lesioned side. In the latter case the range of reduction for SN grafts is reported to be from 40 to 80% [17,37] and with AM grafts from 30 to 75% [29,31,34].

Although in this study no grafts of non-catecholaminergic tissue were used as another control group, the fact that 6 (3 AM and 3 SN) viable but ineffective grafts were found to contain no immunoreactive cells to either TH or DBH indicates that certain tissue specificity was responsible for the observed decreases in turning behavior in groups B and C. The fact that only those grafts with a substantial number of aminergic immunoreactive cells reduced motor asymmetries suggests, but does not

TABLE I

Mean \pm S.D. of difference in [³H]spiperone binding between left and right striatum expressed in fmol/mg of protein

		Untreated control	Sham	AM Graft	SN Graft
Total striatum	Left	81.6 \pm 9.9	70.7 \pm 7.8*	99.4 \pm 18.9	77.0 \pm 12.7*
	Right	84.4 \pm 12.4	61.5 \pm 8.1	91.7 \pm 17.6	64.8 \pm 15.4
	% DIF	3.0	14.9**	8.45	18.9**
Anterior striatum	Left	88.4 \pm 11.3	80.9 \pm 13.9*	111.6 \pm 23.4*	97.6 \pm 20.8*
	Right	90.3 \pm 11.6	68.6 \pm 13.1	104.9 \pm 26.3*	64.8 \pm 23.8
	% DIF	2.1	18**	6.4**	15.2**
Medial striatum	Left	87.8 \pm 9.0	63.6 \pm 7.1*	92.9 \pm 18.1	70.7 \pm 17.7*
	Right	90.1 \pm 13.6	57 \pm 6.7	85.6 \pm 14.8	62 \pm 21.6
	% DIF	2.5	11.5**	8.5	14.1**
Caudal striatum	Left	73.5 \pm 12.1	59.2 \pm 5.5*	82.2 \pm 13.1	61.1 \pm 4.9*
	Right	77.6 \pm 13.7	53.1 \pm 7.6	84.8 \pm 19.8	48.6 \pm 11.4
	% DIF	5.3	11.5*	3.1	25.5**

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

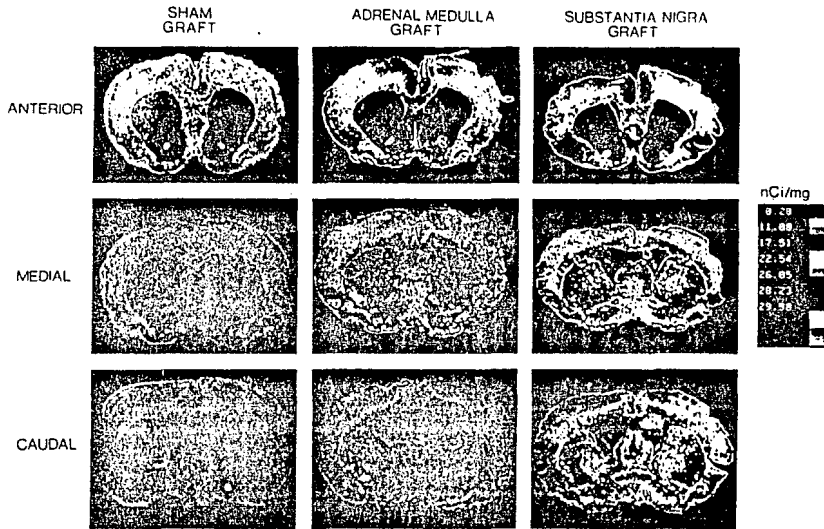


Fig. 4. Images derived from autoradiographs of coronal forebrain sections from anterior to caudal striatum from a rat in the sham group, fetal adrenal medulla graft group and fetal substantia nigra graft group. The left side in each image is the 6-OHDA denervated side. The ^3H -spiperone binding measurement was made through a third order polynomial function with a 0.98 correlation index. The scale for is depicted with color bands indicating nCi/mg protein. The asymmetries can be observed within the bands ranging from the red to the purple color.

prove, that dopamine release may have been responsible for the motor effects.

The main difference, however, between the findings of this study and previous ones is the latency for the reduction in turning behavior. Usually, the effects induced by fetal grafts are found around a week after adrenal or substantia nigra grafts when the tissues are placed on the side of the lesion [16,33]. In contrast, in this study where placement is on the opposite side of the lesion, the reduction in turning behavior was found to occur about 8 and 16 weeks after the transplant of substantia nigra, or adrenal medulla respectively. Taken together, the smaller reduction in turning behavior and the longer latency for it to occur suggests that when the grafted tissue is placed far from the denervated striatum, there is a change in the speed and effectiveness which induces the functional restoration. This observation is in sharp contrast to clinical trials in which the bilateral improvements when they occur in successful patients, do so at a very rapid rate [11].

It was first suggested that reinnervation of the previously denervated striatum could be involved in the mechanisms of restoration induced by fetal substantia nigra grafts [5]. More recent reports, however, suggest that other mechanisms, such as diffusion of dopamine from the grafted tissue [2,7,13] into the denervated striatum and normalization of postsynaptic receptor density [18,19,20] could be responsible. This latter hypothesis has also been proposed to explain the functional restoration induced by adrenal medulla grafts [7,3]. On the other hand, it has been shown that adrenal medulla grafts induce dopaminergic reinnervation of the previously denervated striatum even when very few TH-LI-positive cells were found within the graft [28,29]. In our study, TH-LI and DBH-LI clearly showed no changes in the number of dopaminergic fibers in the denervated striatum after transplantation of either substantia nigra or adrenal medulla fetal tissue, even though all animals showed a clear reduction in apomorphine-induced turning behavior. These findings suggest that there is no need of dopaminergic reinnervation of the striatum for the grafts to reduce the motor impairment produced by the lesion of the nigrostriatal pathway. However, innervation of the lesioned striatum from other than catecholamine containing fibers cannot be ruled out.

Autoradiographic analysis of [³H]spiperone binding to dopaminergic D₂ receptors showed that unilateral lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced an asymmetric pattern of binding between left and right striata characterized by higher binding in the denervated striatum as demonstrated by several authors [8,9,23-25,27]. However, contrary to grafts placed ip-

ilaterally, contralateral transplantation of fetal SN induced no changes in [³H]spiperone binding differences between left and right striata, meaning that the postsynaptic dopamine receptor density asymmetries remained, even when significant decreases in apomorphine-induced turning behavior were present. On the other hand, transplantation of fetal adrenal medulla did reverse the increase in [³H]spiperone binding, except in the anterior striatum, but it took about 4 months to reduce motor asymmetries. Taken together these findings suggest that the behavioral effects induced by the grafted tissues in 6-OHDA-lesioned animals may not entirely depend on normalization of the density of dopaminergic receptors in the denervated striatum. However, it should be pointed out that the decrease in turning behavior was such that the rotational rates were still around rates indicative of a 97% denervation and thus the absence of receptor changes could be due to this outcome. Moreover, since apomorphine is a mixed agonist, acting almost equipotentially at D₁ and D₂ receptors, a behavioral change in the absence of a change in D₂ receptors may not necessarily indicate that no receptor regulation occurred. A conceivable alternative to the latter two possibilities is that the mechanisms of recovery following these contralateral grafts could be related to trophic factors [4,32,35].

Acknowledgement

This study was partially supported by FIRESIN and Fideicomiso UNAM.

References

1. Allen, G.S., Burns, R.S., Tulipan, N.B. and Parker, R.A., Adrenal medullary transplantation to the caudate nucleus in Parkinson's disease. Initial clinical results in 18 patients, *Arch. Neurol.* 46 (1989) 487-491.
2. Becker, J.B. and Freed, W.J., Adrenal medulla grafts enhance functional activity of the striatal dopamine system following substantia nigra lesions, *Brain Res.* 462 (1988) 401-406.
3. Becker, J.B., Curran, E.J., Freed, W.J. and Potlurak, M., Mechanisms of action of adrenal medulla grafts: the possible role of peripheral and central dopamine systems. In S.B. Dunnett and S.J. Richards (Eds.), *Progress in Brain Res.* Vol. 82. Elsevier, Amsterdam, 1990, pp. 499-507.
4. Bohm, M.C., Dupit, L., Marciano, F. and Gash, D.M., Adrenal medulla grafts enhance recovery of striatal dopaminergic fibers, *Science*, 237 (1987) 913-916.
5. Björklund, A. and Stenevi, U., Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants, *Brain Res.* 177 (1979) 555-560.
6. Björklund, A., Dunnett, S.B., Stenevi, U., Lewis, M.R. and Iversen, S.D., Reinnervation of the denervated striatum by substantia nigra transplants: functional consequences as revealed by pharmacological and sensorimotor testing, *Brain Res.* 199 (1980) 307-323.

- 7 Björklund, A., Lindvall, O., Isacson, O., Brundin, P., Wictorin, K., Strömberg, L., Stenew, S.D., and Dunnett, S.B., Mechanisms of action of intracerebral neural implants: studies on nigral and striatal grafts to the lesioned striatum, *TINS*, 10 (1987) 509-516.
- 8 Creese, I., Burt, D.R. and Snyder, S.H., Dopamine receptor binding enhancement correlates with lesion-induced behavioral supersensitivity, *Science*, 197 (1977) 596-598.
- 9 Creese, I. and Snyder, S.H., Nigrostriatal lesions enhance striatal ³H-aminoproprionamide and ³H-Spiroperidol binding, *Eur. J. Pharmacol.*, 56 (1979) 277-281.
- 10 Dravid, A., Jaton, A.L., Enz, A. and Frei, P., Spontaneous recovery from motor asymmetry in adult rats with 6-hydroxydopamine-induced partial lesions of the substantia nigra, *Brain Res.*, 311 (1984) 361-365.
- 11 Drucker-Colin, R.R., Madrazo, I., Ostrosky-Solis, F., Skhurovich, M., Franco, R. and Torres, C., Adrenal medullary tissue transplants in the caudate nucleus of Parkinson's patients. In J. Sladek and D. Gash (Eds.), *Transplants in the central nervous system. Progress in Brain Research*, Vol. 78, Elsevier, Amsterdam, 1988, pp. 567-574.
- 12 Dunnett, S.B., Björklund, A., Stenew, U. and Iversen, S.D., Behavioral recovery following transplantation of substantia nigra in rats subjected to 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. I. Unilateral lesions, *Brain Res.*, 215 (1981) 147-161.
- 13 Dunnett, S.B. and Björklund, A., Mechanisms of function of neural grafts in the adult mammalian brain, *J. Exp. Biol.*, 132 (1987) 265-289.
- 14 Fitzgerald, L.R., Glück, B.D. and Schneider, A.S., Effect of striatal implantation of bovine adrenal chromaffin cells on turning behavior in a rat model of Parkinson's disease, *Brain Res.*, 481 (1989) 373-377.
- 15 Freed, W.J. and Cannon-Spoor, E., Cortical lesions interfere with behavioral recovery from unilateral substantia nigra lesions induced by brain grafts, *Behav. Brain Res.*, 32 (1989) 279-288.
- 16 Freed, W.J., Perlow, M.J., Karoun, F., Seiger, A., Olson, L., Hoffer, B.J., 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 (1980) 510-519.
- 17 Freed, W.J., Morihisa, J.M., Spoor, E., Hooper, B.J., Olson, L., Seiger, A., Wyatt, R.J., Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behavior, *Nature*, 292 (1981) 351-352.
- 18 Freed, W.J., Karoun, F., Spoor, H.E., Olson, L., Morihisa, J. and Wyatt, R.J., Catecholamine content of intracerebral adrenal medulla grafts, *Brain Res.*, 269 (1983) 184-189.
- 19 Freed, W.J., Ko, G.N., Niehoff, D.A., Kuhar, M.J., Hoffer, B.J., Olson, L., Cannon-Spoor, E., Morihisa, J.M. and Wyatt, R.J., Normalization of spiroperidol binding in the denervated rat striatum by homologous grafts of substantia nigra, *Science*, 222 (1983) 937-939.
- 20 Freed, W.J., Olson, L., Ko, G., Morihisa, J.M., Niehoff, D., Strömberg, L., Kuhar, M., Hoffer, B.J. and Wyatt, R.J., Intraventricular substantia nigra and adrenal medulla grafts: Mechanisms of action and [³H]spiroperidol autoradiography. In A. Björklund and U. Stenew (Eds.), *Neural Grafting in the Mammalian CNS*. Elsevier, Amsterdam, 1985, pp. 471-489.
- 21 Heffl, F., Melamed, E. and Wurtman, R.J., Partial lesions of the dopaminergic nigrostriatal system in rat brain: biochemical characterization, *Brain Res.*, 195 (1980) 123-137.
- 22 Hsu, S.M., Raine, L. and Fauger, H., The use of avidine biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and imbedded antibody (PAP) procedures, *J. Histochem. Cytochem.*, 29 (1981) 577-580.
- 23 Joyce, J.N., Loewchen, S.K. and Marshall, J.F., Dopamine D-2 receptors in rat caudate-putamen: the lateral to medial gradient does not correspond to dopaminergic innervation, *Brain Res.*, 338 (1985) 209-218.
- 24 Joyce, J.N. and Marshall, J.F., Striatal topography of D-2 receptor correlates with indexes of cholinergic neuron localization, *Neurosci. Lett.*, 53 (1985) 127-131.
- 25 Joyce, J.N. and Marshall, J.F., Quantitative autoradiography of dopamine D₂ sites in rat caudate-putamen: localization to intrinsic neurons and not to neocortical afferents, *Neuroscience*, 20 (1987) 773-795.
- 26 König, J.F.R. and Klippel, R.A., *The Rat Brain in Stereotaxic Atlas of the Forebrain and Lower Parts of the Brain Stem*. Williams and Wilkins, Baltimore, 1963.
- 27 Neve, K.A., Altar, C.A., Wong, C.A. and Marshall, J.F., Quantitative analysis of ³H spiroperidol binding to rat forebrain sections: plasticity of neostriatal dopamine receptors after nigrostriatal injury, *Brain Res.*, 302 (1984) 9-18.
- 28 Nishino, H., Ono, T., Takahashi, J., Kimura, M., Shiosaka, S. and Tohyama, M., Transplants in the peri and intraventricular region grow better than those in the central parenchyma of the caudate, *Neurosci. Lett.*, 64 (1986) 184-190.
- 29 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 disturbances, *Brain Res.*, 445 (1988) 325-337.
- 30 Paxinos, G. and Watson, C., *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 2nd edn., Academic Press, New York, 1986.
- 31 Perlow, M.J., Freed, W.J., Hoffer, B.J., Seiger, A., Olson, L. and Wyatt, R.F., Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system, *Science*, 204 (1979) 643-647.
- 32 Pezzoli, G., Fahn, S., Divork, A., Truong, D.D. de, Yebenes, J.G., 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 (1988) 398-403.
- 33 Simonds, G.R. and Freed, W.J., Effects of intraventricular substantia nigra allografts as a function of donor age, *Brain Res.*, 530 (1990) 12-19.
- 34 Strömberg, L., Herrera-Marschitz, M., Ungerstedt, U., Ebdendal, T. and Olson, L., Chronic implants of chromaffin tissue into the dopamine-denervated striatum: Effects of NGF on graft survival, fiber growth and rotational behavior, *Exp. Brain Res.*, 60 (1985) 335-349.
- 35 The Rush Research group and colleagues. The adrenal medullary transplant operation: The Chicago experience. In S.B. Dunnett and S.J. Richards (Eds.), *Neural Transplantation from Molecular Basis to Clinical Applications. Progress in Brain Research* Vol. 82. Elsevier, Amsterdam, 1990, pp. 627-635.
- 36 Ungerstedt, U., Postsynaptic supersensitivity after 6 hydroxydopamine induced degeneration of the nigrostriatal dopamine system, *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 367 (1971) 69-93.
- 37 Wyatt, R.J. and Freed, W.J., Grafting dopamine-containing cells into the striatal region of substantia nigra lesioned rats. In A. Bignami (Ed.), *Central Nervous System Plasticity and Repair*. Raven Press, New York, 1985, pp. 63-67.

DISCUSION.

Los resultados del presente trabajo muestran que el trasplante de tejido catecolaminérgico, colocado en el ventrículo contralateral al estriado denervado, produce un decremento significativo sobre la conducta de giro ponderada con apomorfina. La magnitud de este efecto es equiparable con la producida con el trasplante colocado en el lado ipsilateral a la lesión. No obstante, la latencia con la que ocurre este decremento, es mayor que la reportada para los trasplantes ipsilaterales.

Otros grupos de investigación han correlacionado el decremento en la conducta de giro con un decremento en la densidad de receptores DA2 estriatales en las áreas adyacentes al trasplante, después de que el trasplante fué colocado en el ventrículo lateral o en el perénquima estriatal del lado ipsilateral a la lesión. (Freed y cols, 1983; Dawson y cols, 1991). Sin embargo, los resultados del presente trabajo muestran que ésto no ocurre cuando el tejido se implanta en el lado contralateral a la denervación dopaminérgica.

Para explicar el efecto de los trasplantes colocados en el lado ipsilateral, se ha sugerido que la reinervación dopaminérgica del cuerpo estriado denervado, podría ser el principal mecanismo por medio del cual tendría lugar el efecto compensatorio de los trasplantes de sustancia nigra (Björklund y cols, 1987; Dunnett

y Björklund, 1987). No obstante, el análisis histológico en el presente trabajo, no mostró ningún indicio de crecimiento de procesos inmunoreactivos a catecolaminas que se dirigieran hacia el estriado denervado. Por lo que estos resultados no ofrecen apoyo para dicha sugerencia; sin embargo, no se descarta la posibilidad de que la reinervación estriatal haya ocurrido a partir de otros sistemas neuronales diferentes al catecolaminérgico.

Con respecto al decremento conductual generado con el transplante de tejido adrenal y dado que no se ha observado la reinervación del estriado deaferentado, se ha propuesto que éstos trasplantes funcionan de manera parácrina y que las sustancias secretadas por éstos, difunden hacia el cuerpo estriado denervado en un aporte tal que genere los efectos conductuales observados (Björklund y cols, 1987, Dunnett y Björklund, 1987; Freed y cols, 1990).

Se sabe que la dopamina difunde a mayor distancia en el cuerpo estriado después de que se ha destruido a la vía nigroestriatal, ya que los sistema de recaptura para catecolaminas disminuyen significativamente con la denervación (Zigmond y Stricker, 1989; Keefe y cols, 1990). Sin embargo, el diseño de nuestro estudio, no permite establecer si el transplante secreta sustancias neuroactivas en un aporte tal que pueda afectar paulatinamente al estriado denervado

Por otro lado, se sabe que parte de las catecolaminas secretadas por los trasplantes de médula adrenal, alcanzan la circulación sanguínea y se ha propuesto que es a través de esta vía que las sustancias neuroactivas podrían llegar a afectar al cuerpo estriado denervado (Baker y Freed, 1988a, 1988b)

Para el caso de los trasplantes colocados en el lado no lesionado y si consideramos la sugerencia únicamente para las catecolaminas, parece poco probable que este aporte alcance al cuerpo estriado denervado, por el hecho de que la barrera hematoencefálica se restablece cuando se utilizan trasplantes de tejido cerebral y únicamente se mantiene afuncional en las áreas adyacentes al los tranplantes de tejido extracerebral (Pappas y Sagen, 1988; Broadwell y cols, 1990; Takei y cols, 1990).

Hasta el momento, la discusión se ha centrado en torno a los efectos que el trasplante podría tener sobre el cuerpo estriado denervado, en función de las propuestas que existen para explicar los efectos de los trasplantes colocados en el lado ipsilateral, no obstante, dichas propuestas no permiten explicar convincentemente los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo.

Para tratar de explicar dichos resultados se considera necesario fundamentar la explicación en los trabajos relacionados con la conducta de giro, con las iteracciones interhemisféricas y

con la interrelación de los receptores dopaminérgicos estriatales.

Una de las ideas más arraigadas es que la conducta de giro depende de que exista un desequilibrio en la actividad dopaminérgica interestriatal, es decir, la conducta de giro muestra de un modo conductual cual de los estriados presenta la mayor estimulación dopaminérgica. Así en el modelo de la conducta de giro, el desequilibrio motor se debe a que la ausencia de dopamina en uno de los estriados rompe el equilibrio en el aporte del neurotransmisor entre ambos hemisferios, produciéndose incrementos en el número de receptores dopaminérgicos, en la síntesis y en la secreción de dopamina de las neuronas dopaminérgicas que sobrevivieron a la destrucción del sistema nigroestriatal y un decremento en la reincorporación de dopamina. Entonces cuando se estimula a los animales con diferentes agonistas dopaminérgicos se evidencian estas alteraciones. Sin embargo, se ha mostrado que la infusión de L-DOPA en la sustancia nigra reticulada ipsilateral a la denervación, induce la conducta de giro de manera semejante a la que se observa cuando se hace la infusión en el cuerpo estriado o después de la aplicación sistémica de la droga (Robertson y Robertson, 1989). Asimismo, se sabe que la conducta de giro ponderada con agonistas de los receptores depende de la presencia funcional del estriado contralateral, ya que dicha estimulación es inefectiva o se reduce significativamente cuando se destruye al cuerpo estriado no denervado (Costall y cols, 1983). Esto sugiere que la manipulación

de uno de los sistemas nigroestriatales genera cambios importantes en el otro.

En concordancia con lo anterior, se ha demostrado que existe una interdependencia de secreción dopaminérgica entre ambos sistemas nigroestriatales. Así la estimulación de uno de estos sistemas conduce a la disminución de la actividad dopaminérgica en el lado contralateral. Del mismo modo, la aplicación de alfa-metilparatirosina en una de las substancias nigras, provocó una disminución en la secreción de la dopamina en este núcleo y en el cuerpo estriado contralateral, en tanto que provoca un incremento de la secreción dopaminérgica en el cuerpo estriado ipsilateral y en la substancia nigra contralateral (Cheramy y cols, 1981, 1985).

Por otro lado, un trabajo en relación al efecto de los trasplantes que sugiere la participación de mecanismos diferentes a los propuestos previamente, es el reportado por Pezzoli y cols (1988), en el que la combinación del trasplante de tejido no catecolaminérgico con el factor de crecimiento nervioso, indujo efectos conductuales equiparables a los reportados con el trasplante de médula adrenal.

Estos antecedentes son la base para proponer una explicación de los efectos compensatorios del trasplante contralateral.

Es posible que la interdependencia funcional de ambos

sistemas nigroestriatales se conserve aún después de la lesión unilateral, esto se apoya en el hecho de que la destrucción posterior del estriado intacto, bloquea la respuesta conductual ponderada con apomorfina. Entonces se podría especular que el trasplante colocado junto al cuerpo estriado no denervado, este provocando cambios funcionales en el estriado denervado sin que se generen cambios en la densidad de los receptores DA2 en el lado denervado.

Para probar esta hipótesis, se podría esperar que en animales con lesión unilateral, la infusión continua de dopamina en el ventrículo del lado intacto, induzca un decremento en la conducta de giro ponderada con apomorfina y dicho decremento deberá revertirse conforme se agote el aporte de dopamina. Ahora bien si la infusión se realiza utilizando dopamina radioactiva, entonces podría evaluarse la difusión del neurotransmisor hacia el estriado denervado por medio de autoradiografía y si además se coloca una cánua push-pull en el estriado denervado se podría determinar si es dopamina o algún metabolito el que está alcanzando al estriado denervado. Asimismo, dicho cambio en la actividad podría ser visualizado con la técnica de autoradiografía con deoxiglucosa radioactiva.

Por otro lado, se sabe que en condiciones normales, existe una relación funcional entre los dos tipos de receptores dopaminérgicos, la cual parece depender de la actividad tónica de

la dopamina en el estriado. En estas condiciones, se ha mostrado que se requiere de la activación de los receptores DA1 para que se manifiesten los eventos conductuales mediados por los receptores DA2, de aquí que las conductas ponderadas por un determinado agonista, dependerán de la relativa afinidad de los dos tipos de receptores para dicha sustancia y además de la actividad intrínseca de cada tipo de receptor (Barone y cols, 1986; Braun y Chase, 1986; Mashurano y Waddington, 1986; Jackson y Hashizunie, 1986; Arnt y cols, 1987, 1988; Carlson y cols, 1987; White, 1987).

Se sabe que dicha relación se altera después de que se depleta la actividad dopaminérgica en el estriado, lo que da lugar para que cada tipo de receptor produzca de manera independiente eventos conductuales semejantes, pero de menor magnitud que los producidos por la estimulación simultánea de ambos (Ariano, 1989; Barone y cols, 1986; Konitsiotis y Kafetzopoulos, 1990; Lougoni y cols, 1987; Morelli y Dichiaro 1987; Sonsalla y cols, 1988; Stoof, 1988/89). Con este antecedente se podría inferir que si bien los trasplantes no inducen un decremento en la densidad de receptores, tal vez estén restableciendo la interacción funcional que se observa antes de la denervación, para estudiar esta posibilidad se propone que con el mismo paradigma experimental se realice la evaluación conductual con agonistas y antagonistas selectivos para cada tipo de receptor.

Finalmente, se ha mostrado que la destrucción de los núcleos talámicos ventral medial y ventral lateral, altera la interdependencia funcional de los sistemas nigroestriatales (Chesselet y cols, 1983; Romo y cols, 1984; Cheramy y cols, 1985). Entonces también podría esperarse que la destrucción de estos núcleos en animales con lesión unilateral de uno de los sistemas dopaminérgicos nigroestriatales, produzca la abolición o la potenciación de la conducta de giro.

En conclusión, parece ser que para este modelo, los efectos conductuales compensatorios de los transplantes son mediados por más de un mecanismo dado que aún cuando no se detectaron cambios en la densidad de los receptores estriatales DA2 en el lado denervado, se generó un decremento significativo en la conducta de giro inducida por apomorfina. Ahora bien, si se considera que las alteraciones motoras se pueden modificar en más de un sitio, es posible que estudiando las interacciones funcionales de estos sitios, entonces se puedan ofrecer alternativas más eficientes para incrementar los efectos compensatorios de los transplantes.

BIBLIOGRAFIA

- J.E. Ahlskog, G.M. Tyce, P.J. Kelly, J.A. vanHeerden, S.L. Stoddard, S.W. Carmichael. (1989) Cerebrospinal fluid indices of bloom-brain barrier permeability following adrenal-brain transplantation in patients with Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 105: 152-161.
- A. Argiolas, R. Melis, M. F. Fadda, G. Serra and G. L. Gessa. (1982) Effect of dopamine agonist and antagonist on DOPA formation in the substantia nigra. *Journal Neurochem.* 38: 75-79.
- J. Arnt. (1987) Behavioral studies of dopamine receptors evidence for regional selectivity and receptor multiplicity *Dopamine receptors.* Alan R Liss 199-231 (N.Y.)
- J. Arnt. (1987) Behavioral studies of dopamine receptors evidence for regional selectivity and receptor multiplicity. *Dopamine receptors.* 191-231.
- J. Arnt, J. Perregaard. (1987) Synergistic interaction between dopamine D1 and D2 receptor agonists circling behaviour of rats with hemitransection. *European Journal of Pharmacology* 143: 45-53.
- J. Arnt, K.P. Bogeso, J. Hyttel, E. Meier (1988) Relative dopamine D1 and D2 receptor affinity and efficacy determine whether dopamine agonists induce hyperactivity of stereotype in rats. *Pharmacology and Toxicology* 62: 121-130.
- J.B. Backer, E.J. Curran, W.J. Freed, M. Poltorak. (1990a) Mechanisms of action of adrenal medulla grafts The possible role of peripheral and central dopamine systems. *Progress in Brain Research.* Elsevier 499-507. Amsterdam.
- J.B. Dacker, T. E. Robinson, P. Berton, A. Sintov, R. Siden, J. Levy. (1990b) Sustained behavioral from unilateral nigrostriatal damage produced by the controlled release of dopamine from a silicone polymer pellet placed into the denervated striatum. *Brain Research* 508: 60-64.
- C.F. Barcker, R. E. Billingham. (1977) Immunologically privileged sites. *Advances in Immunology* 25: 1-54.
- D. Barone, N. Corsico, A. Diena, A. Restelli, A. Glasser, F. Rodenghi. (1982) Biochemical and pharmacological activities of zetidoline (DL308-IT) a new antidopaminergic agent. *Journal of Pharm. Pharmacol.* 34: 129-132.
- P. Barone, A.T. Davis, R.A. Braun, N.T. Chase. (1986) Dopaminergic mechanisms and motor function Characterization of D1 and D2 dopamine receptor interactions. *European Journal of Pharmacology* 123: 109-112.

- J.B. Becker, W.J. Freed. (1988a) Adrenal medulla grafts enhance functional activity of the striatal dopamine system following substantia nigra lesions. *Brain Research* 462: 401-406.
- J.B. Becker, W.J. Freed. (1988b) Neurochemical correlates of behavioral changes following intraventricular adrenal medulla grafts intraventricular microdialysis in freely moving rats. *Progress in Brain Research*. Elsevier 527-533. Amsterdam.
- W. Birkmayer, J.G.D. Birkmayer. (1989) *The L-Dopa story. Parkinsonism and Aging*. Raven Press. 1-7. (N.Y.)
- A. Björklund, R.H., Schmidt, U. Stenevi (1980a) Functional reinnervation of the neostriatum in the adult rat by use of intraparenchymal grafting of dissociated cell suspensions from the substantia nigra. *Cell Tissue Research* (212) 39- 45.
- A. Björklund, S.B. Dunnett, U. Stenevi, M.E. Lewis, S.D. Iversen. (1980b) Reinnervation of the denervated striatum by substantia nigra transplants functional consequences as revealed by pharmacological and sensoriomotor testing. *Brain Research*. 199: 307-333.
- A. Björklund, U. Stenevi. (1979) Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. *Brain Research* 177: 555-560.
- A. Björklund, U. Stenevi. (1984) Intracerebral neural implants neuronal replacement and reconstruction of damaged circuitries. *Annual Reviews of Neuroscience* 7: 279-308.
- A. Björklund, U. Stenevi. (1985) Intracerebral neural grafting a historical perspective. *Neural grafting in the mammalian CNS*. Elsevier 3-14. Amsterdam.
- A. Björklund, U. Stenevi, R.H. Schmidt, S. B. Dunnett, F.H. Gage. (1983) Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. II, survival and growth of nigral cells implanted in different brain sites. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl.) 522: 11-22.
- R.A. Braun, N.T. Chase. (1986) Obligatory D1/D2 receptor interaction in the generation of dopamine related behavior. *European Journal of Pharmacology* 131: 301-306.
- R.D. Broadwell, H.M. Charlton, P. Ebert, W. F. Hickey, J.C. Villegas, A.L. Wolf. (1990) Angiogenesis and blood-brain barrier in solid and dissociated cell grafts within the CNS. *Progress in Brain Research*. Elsevier. 95-101. Amsterdam.
- R.D. Broadwell, H.M. Charlton, P. Ebert, W.F. Hickey, Y. Shirazi, J. Villegas, A.L. Wolf. (1991) Allografts of CNS tissue possess a blood-brain barrier. II. Angiogenesis in solid tissue and cell

suspension grafts. *Experimental Neurology*. 112: 1-28.

-R.D. Broadwell, M.W. Brightman. (1976) Entry of peroxidase to neurons of the central and peripheral nervous system from extra-cerebral and cerebral blood. *Journal of Comparative Neurology* 166: 257-284.

- J.H. Brown, M.H. Mackman. (1972) Stimulation by dopamine of adenylate cyclase in retinal homogenates and of adenosine 3'-5'-cyclic monophosphate formation in intact retina. *Proc. Natl., Acad. Sci. USA* 69: 539-543.

-P. Brundin, O.G. Nilssen, F.H. Gage, A. Björklund (1985) Cyclosporine A increases survival of cross-species intrastriatal grafts of embryonic dopamine-containing neurons. *Experimental Brain Research* 60: 204-208.

-P. Brundin, R. E. Strecker, H. Widner, D.J. Clarke, O.G. Nilsson, B. Astedt, O. Lindvall, A. Björklund. (1988) Human fetal dopamine neurons grafted in a model of Parkinson's disease immunological aspects, spontaneous and drug-induced behavior, and dopamine release. *Experimental Brain Research* 70: 192-208.

- A. Carlsson, M. Lindquist, T. Magnusson. (1957) 3,4-dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonist. *Nature (London)*. 180: 1200.

- H.J. Carlson, A.D. Bergstrom, R.J. Walters. (1987) Stimulation of both D1 and D2 dopamine receptors appears necessary for full expression of postsynaptic effects of dopamine agonists a neurophysiological study. *Brain Research* 400: 205-218.

- A. Chéramy, R. Romo, J. Glowinski. (1985) Dopamine release and neuronal activity in the two nigrostriatal systems. In vivo perfusion and release of neuroactive substances. *Academic Press*. 161-175 (N.Y.)

- A. Chéramy, V. Leviel, F. Daudet, B. Guibert, M.F. Chesselet and J. Glowinski. (1981) Involvement of the thalamus in the reciprocal regulation of the two nigrostriatal dopaminergic pathways. *Neuroscience* 6: 2657-2658.

- A. Chéramy, V. Leviel, J. Glowinski. (1981) Dendritic release of dopamine in the substantia nigra. *Nature (London)* 289: 537-542.

- F.M. Chesselet, A. Chéramy, R. Romo, M. Desban, J. Glowinski. (1983) GABA in the thalamic motor nuclei modulates dopamine release from two dopaminergic nigrostriatal pathway in the cat. *Experimental Brain Research* 51: 275-282.

-L.A. Chiodo, M.J. Bannon, A.A. Grase, R.H. Roth, B.S. Bunney. (1984) Evidence for the absence of impulse-regulating

somatodendritic and synthesis-modulating nerve terminal receptors on subpopulation of mesocortical dopamine neurons. *J. Neuroscience* 12: 1-16.

- D. Clarck, F.J. White. (1987) Review: D1 dopamine receptor the search for a function a critical evaluation of the D1/D2 dopamine receptor classification and its functional implications. *Synapse* 1: 347-388.

- Y.C. Clemment-Cormier, J.W. Keabian, G.L. Petzold, P. Greengard. (1974) Dopamine-sensitive adenylate cyclase in mammalian brain A possible site of action of antipsychotic drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71: 1113-1117.

- B. Costall, E.M. Kelly, J.R. Naylor. (1983) Does contralateral circling involve action of drugs on hyposensitive striatal dopamine receptors in the hemisphere contralateral to denervation. *Neuropharmacology* 22: 295-302.

- G.C. Cotzias, H.H. vanWoert, L.M. Schiffer. (1967) Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. *New England Journal of Medicine* 276: 374-379.

- I. Creese, D.R. Burt, S.H. Snyder. (1977) Dopamine receptor binding enhancement correlates with lesion-induced behavioral supersensitivity. *Science* 197: 596-598.

- I. Creese, D.R. Sibley. (1981) Receptor adaptations to centrally acting drugs. *Annual Reviews Pharmacol. Toxicol.* 21: 357-391.

- I. Creese, D.R. Sibley, M. W. Hamblin, S.E. Left. (1983) the classification of dopamine receptors relationship to radioligand binding. *Ann. Rev. Neurosci.* 6: 43-71.

- I. Creese, L. Morrow, S.E. Leff, D.R. Sibley, N.W. Hamblin. (1982) Dopamine receptors in the central nervous system. *International reviews of Neurobiology* 23: 255-301.

- I. Creese, S.H. Snyder. (1979) Nigrostriatal lesions enhance striatal 3H-apomorphine and 3H-Spiroperidol binding. *European Journal of Pharmacology* 56: 277-281.

- R. Daltoso, O. Giorgi, C. Soranzo, G. Kirschner, G. Ferrari, M. Favaron, D. Benvegno, D. Presti, G. Vicini, S. Toffano. (1988) Development and survival of neurons in dissociated fetal mesencephalic serum-free cell cultures I. Effects of cell density and of an adult mammalian striatal-derived neuronotrophic factor (SONF). *Journal of Neuroscience* 8: 733-745.

- G.D. Das. (1985) Intraparenchymal transplantation. *Neural grafting in the mammalian CNS.* Elsevier 23-30 Amsterdam.

-M.T. Dawson, L.V. Dawson, F. Gage, L-J Fisher, A.M. Hunt, K.J. Wamshi. (1991) Functional recovery of supersensitive dopamine receptors after intrastriatal grafts of fetal substantia nigra. *Experimental Neurology* 111: 282-292.

- A. DeLean, B.F. Kilpatrick, M. G. Caron. (1982) Dopamine receptor of the porcine anterior pituitary gland. Evidence for two affinity states discriminated by both agonists and antagonists. *Molecular Pharmacology* 22: 290-297.

-M.R. DeLong, A.P. Georgopoulos. (1981) Motor functions of the basal ganglia. *Handbook of physiology*, section I The nervous system. American Physiological Society 1017-1061. Bethesda.

- G. Doucet, P. Brundin, S Seth, Y. Murata, R.E. Strecker, L.C. Triarhou, B. Ghetti, A. Björklund. (1989) Degeneration and graft-induced restoration of dopamine innervation in the weaver mouse neostriatum a quantitative radioautographic study of [³H]dopamine uptake. *Experimental Brain Research* 77: 552-568.

- A.J. Doupe, S.C. Landis, P.H. Patterson. (1985) Environmental influences in the development of neuronal crest derivatives Glucocorticoids, growth factor, and chromaffin cell plasticity. *Journal of Neuroscience* 5: 2119-2142.

-R. Drucker-Colin, F. Garcia-Hernández, J.L. Mendoza-Ramirez, M.T. Pacheco-Cano, B.R. Komisaruk. (1990) Possible mechanisms of action of adrenal transplants in Parkinson's disease. *Progress in Brain Research Elsevier*. 509-514. Amsterdam.

-S.B. Dunnett, A. Björklund. (1987) Mechanisms of function of neural grafts in the adult mammalian brain. *Journal of Experimental biology* 132: 265-289.

-S.B. Dunnett, A. Björklund, U. Stenevi, S.D. Iversen. (1981a) Grafts of embryonic substantia nigra reinnervating the ventrolateral striatum ameliorate sensorimotor impairments and akinesia in rats with 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Brain Research* 229: 209-217.

-S.B. Dunnett, A. Björklund, U. Stenevi, S.D. Iversen. (1981b) Behavioral recovery following transplantation of substantia nigra in rats subjected to 6-OHDA lesion of the nigrostriatal pathway. I. Unilateral lesion. *Brain Research* 215: 147-161.

-S.B. Dunnett, D.C. Rogers, S-J. Richards. (1989) Nigrostriatal reconstruction after 6-OHDA lesions in rats. Combination of dopaminergic-rich nigral grafts and nigrostriatal "bridge" grafts. *Experimental Brain Research* 75: 523-535.

-S.B. Dunnett, I.Q. Wishaw, D.C. Rogers, G.H. Jones. (1987) Dopamine-rich grafts ameliorate whole body motor asymmetry and

sensory neglect but not independent limb use in rats with 6-hydroxydopamine lesions. *Brain Research* 415: 63-78.

-S.B. Dunnett, T.D. Hernández, A. Summerfield, G.H. Jones, G. Arbuthnott. (1988) Graft-derived recovery from 6-OHDA lesions specificity of ventral mesencephalic graft tissue. *Experimental Brain Research* 71: 411-424.

- F. Fadda, A. Argiolas, E. Stefanini, G.L. Gessa. (1977) Differential effect of psychotropic drugs on dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in the rats substantia nigra and caudate nucleus. *Life Science* 21: 411-418.

- B. R. Finsen, E.B. Pedersen, T. Sorensen, M. Hokland, J. Zimmer. (1990) Immune reactions against intracerebral murine xenografts of fetal hippocampal tissue and cultured cortical astrocytes in the adult rat. *Progress in Brain Research*. Elsevier 111-128. Amsterdam.

-K.E. Flaim, G.W. Gessner, S.T. Crooke, J.R. Heys, J. Weinstock. (1986) Regulation of agonist and antagonist binding to striatal D1 dopamine receptors studies using the selective D1 antagonist [3H] SK&FR-83566. *Life Science* 38: 2087-2096.

-W.J. Freed. (1985) Transplantation of tissue to cerebral ventricles methodological details and rate of graft survival. *Neural grafting in the mammalian CNS*. Elsevier. 31-40. Amsterdam.

-W.J. Freed, G.N. Ko., D.L. Niehoff, M.J. Kuhar, B.J. Hoffer, L. Olson, E. Cannon-Spoor, R.M. Wyatt. (1983) Normalization of spiroperidol binding in the denervated rat striatum by homologous grafts of substantia nigra. *Science* 222: 937- 939.

-W.J. Freed, J. Morihisa, E. Spoor, B. Hoffer, L. Olson, A. Seiger, R.Y. Wyatt. (1981) Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behavior. *Nature (London)*. 292: 351-352.

-W.J. Freed, M. Poltorak, J.B. Backer. (1990) Intracerebral adrenal medulla grafts. *A Review Experimental Neurology* 110: 139-166.

-W.J. Freed, M.J. Perlow, F. Karoum, A. Seiger, L. Olson, B.J. Hoffer, R.J. Wyatt. (1980) Restoration of dopaminergic function by grafting of fetal rat substantia nigra to the caudate nucleus long-term behavioral, biochemical, and histochemical studies. *Annals of Neurology* 8: 510-519.

- F.H. Gage, A. Björklund. (1986) Neural grafting in the aged rat brain. *Annual Reviews of Physiology* 48: 447-459.

- F.H. Gage, U. Stenevi, T. Carlstedt, G. Foster, A. Björklund,

A.J. Aguayo. (1985) Anatomical and functional consequences of grafting mesencephalic neurons into a peripheral nerve "bridge" connected to the denervated striatum. *Experimental Brain Research* 60: 584-589.

- A. J. Gower, A.S. Marriott. (1982) Pharmacological evidence for the subclassification of central dopamine receptors in the rat. *Br. Journal of Pharmacology* 77: 185-194.

- D.G. Graham, S.M. Tiffany, W.R. Jr. Bell, W.F. Gutkecht. (1978) Autooxidation versus covalent binding of quinones as the mechanisms of toxicity of dopamine, 6-hydroxydopamine, and related compounds toward C1300 neuroblastoma cells in vitro. *Molecular Pharmacol.* 14: 644-653.

-P. Greengard. (1976) Possible role for cyclic nucleotides and phosphorylated membrane proteins in postsynaptic action of neurotransmitters. *Nature (London)* 260: 101-108.

-R. Hargraves, W.J. Freed. (1987) Chronic intrastriatal dopamine infusions in rats with unilateral lesions of the substantia nigra. *Life Sciences* 40: 959-966.

- D.N. Hart, J.W. Fabre. (1981) Demonstration and characterization of Ia-positive dendritic cells in the interstitial connective tissue of rat heart and other tissue, but not brain. *J. Exp. Med.* 153: 347-361.

- F. Hefti, E. Melamed, R.J. Wurtman. (1980) Partial lesions of the dopaminergic nigrostriatal system in rat brain biochemical characterization. *Brain Research* 195: 123-137.

-M. Herrera-Marschitz, I. Strömberg, D. Olsson, U. Ungerstedt, L. Olson. (1984) Adrenal medullary implants in the dopamine-denervated rat striatum II. Acute behavior as a function of graft amount and location and its modulation by neuroleptics. *Brain Research* 297: 53-61.

- C. Hyman, M. Hofer, Y.-A. Barde, M. Juhasz, G.D. Yaucopoulos, S. P. Squinto, R.M. Lindsay. (1991) BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra. *Nature (London)* 350: 230-232.

-P.C. Hoffman, L.M. Hemmendinger, C. Kotake, A. Heller. (1983) Enhanced dopamine cell survival in reaggregates containing telencephalic target cells. *Brain Research* 274: 275-281.

- L.L. Iversen. (1973) Actions of 6-hydroxydopamine on catecholamine-containing neurons in the central nervous system. *Neurology* 3: 243-252.

-L.L. Iversen. (1975) Dopamine receptors in the brain. *Science*

188: 1084-1089.

-L.L. Iversen, M.A. Rogawski, R.J. Miller. (1976) Comparison of the effects of neuroleptic drugs on pre- and post- synaptic dopaminergic mechanisms in the rat striatum. *Molecular Pharmacology* 12: 251-262.

-M.D. Jackson, M. Hashizume. (1986) Bromocriptine induces marked locomotor stimulation in dopamine-depleted mice when D1 dopamine receptors are stimulated with SKF38393. *Psychopharmacology* 90: 147-149.

- G. Jonsson. *Journal* (1980) Chemical neurotoxins as denervation tools in neurobiology. *Ann. Rev. Neurosci.* 3: 169-187.

- J.N. Joyce, J.F. Marshall. (1985b) Striatal topography of D2 receptor correlates with index of cholinergic neuron localization. *Neuroscience Letters* 53: 127-131.

- J.N. Joyce, J.F. Marshall. (1987) Quantitative radiography of dopamine D2 sites in the caudate-putamen Localization to intrinsic neurons and not to neocortical afferents. *Neuroscience* 20: 773-795.

- J.N. Joyce, S.K. Loesch, J.F. Marshall. (1985a) Dopamine D2 receptors in the rat caudate-putamen the lateral to medial gradient does not correspond to dopaminergic innervation. *Brain Research* 338: 209-218.

-J.W. Keibarian, D.B. Calne. (1979) Multiple receptors for dopamine. *Nature* (London). 277: 93-96.

-J.W. Keibarian, G.L. Petzold, P. Greengard. (1972) Dopamine-sensitive adenylate cyclase in caudate nucleus of the rat brain, and its similarity to the "dopamine receptor". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69: 2145-2149.

-S. Konitsiotis, E. Kafetzopoulos. (1990) Topography of dopamine D1 and D2 receptor-mediated rotation after intrastriatal injections of dopamine-related drugs in neurosensitive rats. *European Journal of Pharmacology* 179: 201-205.

- J.H. Kordower, M.S. Fiandaca, M.F.D. Notler, J.T. Hansen, D.M. Gash. (1990) Scientific basis for dopaminergic brain grafting. *Therapy of Parkinson's disease.* Marcel Dekker 443-472. (N.Y.).

-S. Korsching, G. Auburger, R. Heumann, J. Scott, H. Thoenen. (1985) Levels of nerve growth factor and its mRNA in the central nervous system of the rat correlate with cholinergic innervation. *EMBO. J.* 4: 1389-1393.

-J.W. Langston, I. Irwin, E.B. Langston, L.S. Forno. (1984) 1-Methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP+) identification of a

metabolite of MPTP, a toxin selective to the substantia nigra. *Neuroscience Letters* 48: 87-92.

-J.W. Langston, I. Irwin, G. A. Ricaurte. (1987) Neurotoxins, Parkinsonism and Parkinson disease. *Pharmac. Ther.* 32: 19-49.

-J.W. Langston, I. Irwing. (1986) MPTP Current concepts and controversies. *Clinical Neuropharmacology.* 9: 485-507.

-J.W. Langston, P.A. Ballard, J.W. Tetrad, I. Irwin. (1983) Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 219: 979-980.

-R. Longoni, L. Spina, G. DiChiara. (1987) Permissive role of D1 receptor stimulation by endogenous dopamine for the expression of postsynaptic D2 mediated behavioural responses. Yawning in rats. *European Journal of Pharmacology* 134: 163-168.

- A. Mariano. (1989) Long-term changes in striatal D1 dopamine receptor distribution after dopaminergic deafferentation. *Neuroscience* 32: 203-212.

- J.F. Marshall, R. Navarrete, J.N. Joyce. (1989) Decreased striatal D1 binding density following neurotelencephalic 6-hydroxydopamine injections an adiographic analysis. *Brain Research* 493: 247-257.

-M. Mashurano, L.J. Widdington. (1986) Stereotyped behaviour in response to the selective D2 dopamine receptor agonist RU24213 enhanced by pretreatment with the selective D1 agonist SK&F38393. *Neuropharmacology* 25: 947-949.

- D.W. Mason, H.M. Charlton, A.J. Jones, C.B. Levy, M. Pklarec, S.J. Simmonds. (1986) The fate of allogeneic and xenogeneic neuronal tissue transplanted into the third ventricle of rodents. *Neuroscience* 19: 685-694.

-K.H. Meador-Woodroff, A. Mansour, J.R. Bunzow, H.M. van Tol., S.J. Watson, O. Civelli. (1989) Distribution of D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 7625-7628.

-R. Meloni, F. Gerogan, J. Childs, S. Yurkofsky, K. Gales. (1988) Effect of haloperidol on transplants of fetal substantia nigra evidence for feedback regulation of dopamine turnover in the graft and its projections. *Progress in Brain Research.* Elsevier. 457-461. Amsterdam.

-R. Meloni, K. Gale. (1990) Differential regulation of dopamine metabolism in solid substantia nigra transplants and their terminals in the host striatum. *Progress in Brain Research.* Elsevier. 467-471. Amsterdam.

- R.J. Miller, A.S. Horn, L.L. Iversen. (1974) The action of neuroleptic drugs on dopamine-stimulated adenosine cyclic 3',5'-monophosphate production in rat neostriatum and limbic forebrain. *Molecular Pharmacology* 10: 759-766.
- K.A. Neve, C.A. Altar, C.A. Wong, J.F. Marshall. (1984) Quantitative analysis of [³H] Spiroperidol binding to rat forebrain sections. Plasticity of neostriatal dopamine receptors after nigrostriatal injury. *Brain Research* 302: 9-18.
- K.A. Neve, R.L. Neve, S. Fidel, A. Jauowsky, G.A. Higgino. (1991) Increased abundance of alternatively spliced forms of D2 dopamine receptor mRNA after denervation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 2802-2806.
- A. Nieoullon, A. Chéramy, J. Glowinski. (1977) Release of dopamine in vivo from cat substantia nigra. *Nature (London)* 266: 375-377.
- H. Nissbrandt, E. Sundstom, G. Jonsson, S.Hjorth, A. Carlsson. (1989) Synthesis and release of dopamine in rat brain comparison between substantia nigra pars compacta, pars reticulata and striatum. *Journal Neurochem.* 52: 1170- 1182.
- G.D. Pappas, J. Sageb. (1988) Fine structural correlates of vascular permeability of chromaffin cell transplants in CNS pain modulatory regions. *Experimental Neurology* 102: 280- 289.
- G. Pezzoli, S. Fahn, A. Divork, D.D. Truong, J.G. de Yebenes, V. Jackson-Lewis, J. Herbert, J.L. Cadet. (1988) Non-chromaffin tissue plus nerve growth factor reduces experimental parkinsonism in aged rats. *Brain Research* 459: 398-403.
- I.F. Pollack, R.D. Lund, K.Ras. (1990) MCH antigen expression in spontaneous and induced rejection of neural xenografts. *Progress in Brain Research.* Elsevier 129-140. Amsterdam.
- T. Reisine. (1981) Adaptative changes in catecholamine receptors in the central nervous system. *Neuroscience* 6: 1471-1502.
- G.S. Robertson, H.A. Robertson. (1989) Evidence that L-DOPA induced rotational behavior is dependent on both striatal and nigral mechanisms. *Journal of Neuroscience* 9: 3326- 3331.
- T.E. Robinson, I.Q. Whishaw. (1988) Normalization of extracellular dopamine in striatum following recovery from a partial unilateral 6-OHDA lesion of the substantia nigra a microdialysis study in freely moving rats. *Brain Research* 450: 209-224.
- R. Romo, A Chéramy, G. Godehen, J. Glowinski. (1984) 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 nuclei. *Brain Research* 308: 43-52.

-R. Romo, W. Schultz. (1990) Dopamine neurons of the monkey midbrain contingencies of responses to active touch during self-initiated arm movements. *Journal of Neurophysiology* 63: 592-606.

- J.M. Rosentstein. (1987). Adrenal medulla grafts produce blood-brain barrier disfunction. *Brain Research* 414: 192- 196.

-R. H. Roth, M. A. Wolf, A. Y Deutch. (1987) Neurochemistry of midbrain dopamine systems. *Psychopharmacology The third generation of progress.* Raven Press. 81-94 (N.Y.).

-R.H. Schmidt, A. Björklund, U. Stenevi, S.B. Dunnett, F.H. Gage. (1983) Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions III. Activity of nigral cell suspension implants as assessed by measurements of dopamine synthesis and metabolism. *Acta Physiol. Scand. (Suppl.)* 522: 19-28.

-W. Schultz, A. Studer, R. Romo, E. Sundström, G. Jonsson, E. Scarnati. (1989b) Deficit in reaction times and movement times as correlates of hypokinesia in monkeys with MPTP- induced striatal dopamine depletion. *Journal of Neurophysiology* 61: 651-668.

-W. Schultz, R. Romo. (1988) Neuronal activity in the monkey striatum during the initiation of movements. *Experimental Brain Research.* 71: 431-436.

-W. Schultz, R. Romo. (1990) Dopamine neurons of the monkey midbrain Contingencies of responses to stimuli eliciting immediate behavioral reactions. *Journal of Neurophysiology* 63: 607-624.

-W. Schultz, R. Romo E. Scarnati, E. Sundström, G. Jonsson, A. Studer. (1989a) Saccadic reaction times, eye-arm coordination and spontaneous eye movements in normal and MPTP-treated monkeys. *Experimental Brain Research* 78: 253- 267.

-P. Seeman. (1980) Brain dopamine receptors. *Pharmacological Reviews* 32: 229-313.

-P. Seemnan, D. Grigoriadis. (1987) Dopamine receptors in brain and periphery. *Neurochem. Int.* 10: 1-25.

-P.E. Setler, H.M. Saran, C.L. Zircle, H.L. Sannders. (1978) The central effects of a novel dopamine agonist. *European Journal of Pharmacology* 50: 419-430.

- G.R. Simonds, W.J. Freed. (1990) Effects of intraventricular substantia nigra allografts as a function of donor age. *Brain Research* 530: 12-19.

- D.J. Sloan, B.J. Backer, M. Puklavec, H.M. Charlton. (1990) The effect of the site of transplantation and histocompatibility differences on the survival of neural tissue transplanted to the CNS of defined inbred rat strains. *Progress in Brain Research*. Elsevier 141-152. Amsterdam.

-S.H. Snyder, I. Creese, D.R. Burt. (1975) The brain's dopamine receptor Labelling with [³H] dopamine and [³H] haloperidol. *Psychopharmacol. Commun.* 1: 663-673.

-S.H. Snyder, R.R. Goodman. (1980) Multiple neurotransmitter receptors. *Journal of Neurochem.* 35: 5-15.

-P.K. Sonsalla, L. Manzino, R.E. Heikkilä. (1988) Interactions of D1 and D2 dopamine receptors on the ipsilateral vs contralateral side in rats with unilateral lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 247: 180-185.

-U. Stenevi, L.F. Kromer, F.H. Gage, A. Björklund. (1985) Solid neural grafts in intracerebral transplantation cavities. Neural grafting in the mammalian CNS. Elsevier. 41-49. Amsterdam.

-U. Stenevi, L.F. Kromer, F.H. Gage, A. Björklund. (1985) Solid neural grafts in intracerebral transplantation cavities. Neural grafting in the mammalian CNS. Elsevier. 41-49. Amsterdam.

- J.C. Stoof. (1988/89) Localization and pharmacology of some dopamine receptor complexes in the striatum and pituitary gland Synaptic and non-synaptic communication. *Acta Morphologica Scand.* 26: 115-130.

- J.C. Stoof, J.W. Keabian. (1982) Independent in vitro regulation by the D2 dopamine receptor of dopamine-stimulated efflux of cyclic AMP and K⁺-stimulated release of acetylcholine from rat neostriatum. *Brain Research* 250: 263-270.

-R.E. Strecker, T. Sharp, P. Brundin, T. Zetterstrom, U. Ungerstedt, A. Björklund. (1987) Autorregulation of dopamine release and metabolism by intrastriatal nigral grafts as revealed by intracerebral dialysis. *Neuroscience* 22: 169-178.

- I. Strömberg, M. Herrera-Marshitz, L. Hultgren, U. Ungerstedt, L. Olson. (1984) Adrenal medullary implants in the dopamine-denervated rat striatum I. Acute catecholamine levels in grafts and host caudate as determined by HPLC-electrochemical image analysis. *Brain Research* 297: 41-51.

- I. Strömberg, M. Herrera-Marshitz, U. Ungerstedt, T. Ebendal, L. Olson. (1985) Chronic implants of chromaffin tissue into the dopamine-denervated striatum. Effects of NGF on graft survival, fibre growth and rotational behavior. *Experimental Brain Research*

60: 335-349.

-K. Takei, Y. Nakano, T. Shinozaki, S. Toya, Y. Tsukada, S. Kohsaka. (1990) Immunological rejection of grafted tissue in xenogeneic neural transplantation. *Progress in Brain Research*, Elsevier 103-109. Amsterdam.

- H. Thoenen, J.P. Tranzer. (1973) The pharmacology of 6-hydroxydopamine. *Annual Review of Pharmacology* 132: 169- 180.

-Y. Tomozawa, S. H. Appel. (1986) Soluble striatal extracts enhance development of mesencephalic dopaminergic neurons in vitro. *Brain Research* 399: 111-124.

- A.J. Trevor, N. Castagnoli, P. Caldera, Jr., R.R. Ramsay, T.P. Singer. (1987) III. Bioactivation of MPTP reactive metabolites and possible biochemical sequelae. *Life Sciences* 40: 713-719.

-U. Ungerstedt. (1971a) Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl) 367: 1-48.

-U. Ungerstedt. (1971b) Striatal dopamine release after amphetamine or nerve degeneration revealed by rotational behaviour. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl.) 367: 49-68.

-U. Ungerstedt. (1971c) Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of the nigro- striatal dopamine system. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl.) 367: 69-93.

-K. Unsicker, B. Kirch, U. Otten, H. Thoenen. (1978) Nerve growth factor-induced fiber outgrowth from isolated rat adrenal chromaffin cells Impairment by glucocorticoids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75: 3495-3502.

-K. Unsicker, J.Vey, H.D. Hofmann, T.H. Muller, A.J. Wilbon. (1984) C6 glioma cell-conditioned medium induces neurite outgrowth and survival of rat chromaffin cells in vitro Comparison with the effects of nerve growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 2242-2246.

-K. Unsicker, S.D. Skaper, S. Varon. (1985) Neurotrophic and neurite-promoting factors Effects on early postnatal chromaffin cells from rat adrenal medulla. *Development Brain Research* 17: 117-129.

-K. Unsicker, T.J. Millar, H.D. Hofmann. (1982) Nerve growth factor requirement of postnatal rat adrenal medullary cells in vitro for survival, aggregate formation and maintenance of extended neurites. *Development Neuroscience* 5: 417-421.

- J.R. Walters, A. Berstrom, J.H. Carlson, B. Weick, H.S. Pan.

(1987) Stimulation of D1 and D2 dopamine receptors Synergistic effects on single unit activity in Basal Ganglia output nuclei. Neurophysiology of dopaminergic system - current status and clinical perspectives. Lakeshore 285- 316.

- J.F. White. (1987) D1 dopamine receptor stimulation enables the inhibition of nucleus accumbens neurons by a D2 receptor agonist. European Journal of Pharmacology 135: 101-105.

- H. Winder, P. Brundin. (1988) Immunological aspects of grafting in the mammalian central nervous system. A Review and speculative synthesis. Brain Research Reviews 13: 287- 324.

- G.F. Wooten, J.M. Trugman. (1989) The dopamine motor system. Movement disorders. 4 suppl 1: 538-547.

-T. Zetterström, P. Brundin, F.H. Gage, T. Sharp, O. Isacson, S.B. Dunnett, U. Ungerstedt. (1986) In vivo measurement of spontaneous release and metabolism of dopamine from intrastriatal nigral grafts using intracerebral dialysis. Brain Research 362: 344-349.

- J.M. Zigmond, M.E. Stricker. (1989) Animal models of parkinsonism using selective neurotoxins Clinical and basic implications. International Review of Neurobiology 31: 1- 79.

- A. Zuddas, G.U. Corsini, J.L. Barker, I.J. Kopin, U. Porzio. (1990) Specific reinnervation of lesioned mouse striatum by grafted mesencephalic dopaminergic neurons. European Journal of Neuroscience 3: 72-85.