

1  
00341 241



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ANALISIS ULTRAESTRUCTURAL DEL NUCI FO CAIDADO  
IPSILATERAL AL TRANSPLANTE INTRAVENTRICULAR DE  
TEJIDO MESENFALICO FETAL EN RATAS CON  
DENERVACION DOPAMINERGICA UNILATERAL

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

ESPECIALISTA EN MICROSCOPIA ELECTRONICA

APLICADA A LAS CIENCIAS BIOLÓGICAS

P R E S E N T A:

M.en C. VERONICA ANAYA MARTINEZ

DIRECTOR DE TESINA: DR. FERNANDO GARCIA HERNANDEZ

LAB. DE NEUROMORFOLOGIA, NEUROCIENCIAS, UICSE, ENEP-IZTACALA, UNAM.

MEXICO, D. F.

1998

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

267444



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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

Dedico esta tesina:

A mis padres, por su ejemplo de perseverancia y fortaleza.

A mis hermanos, por que son mis mejores amigos.

A mis sobrinos Ivan, César Alexis y Naomi Fabiola, por que son  
inspiración y aliciente

A mis cuñados Raquel, Eva y Fabián.

A mis amigos de Neurociencias: Enrrrique, Natalia, Daniel,  
Chucho, César, Lauris, Esther, Yazmin, Miguel y Leticia, por su  
apoyo.

A mi Nigra Rose por que “ a veces para crecer juntos hay que  
crecer por separado” (Kevin Arnold. The Wonder Years).

A mis amigos de Microscopia Electrónica: Marco, Ernestina Flores,  
Lupita, Silvia, Rosario, Luis Alberto, Mario, Cecilia, Elsa, Ernestina  
Ubaldo, Luis Felipe, Gabriel y Lourdes.

A mis amigos de siempre: Paty, Olivia, Laura, Sofis, Sandra,  
Martha, Humberto, América, Liliana, Samuel, Carlo y Lourdes.

A mis familiares y amigos.

## Agradecimientos:

Al *Dr. FERNANDO GARCIA HERNANDEZ* por su esfuerzo en la realización y revisión del presente reporte, pero sobre todo por su confianza y amistad.

A los profesores *Dra. OLGA MARGARITA ECHEVERRIA MARTINEZ, Dra. GUADALUPE ZAVALA, Biol. ERNESTINA FLORES RIVERA* y *Dr. GERARDO HEBERT VAZQUEZ NIN* por sus valiosas enseñanzas, guía y apoyo en la revisión del escrito.

## ÍNDICE:

Resumen .....	1
Introducción .....	3
Organización de los Ganglios Basales .....	4
Modelo experimental .....	7
Otros efectos de la depleción dopaminérgica .....	9
Recuperación de las funciones a través del trasplante de tejido dopaminérgico .....	11
Trasplantes dopaminérgicos en humanos .....	14
Objetivo .....	15
Método .....	16
Resultados .....	19
Aspectos motores .....	19
Área de los botones sinápticos .....	20
Longitud de la zona activa .....	21
Distribución vesicular .....	22
Tipo de contacto sináptico .....	23
Estructura de contacto postsináptico .....	24
Número de contactos con la misma estructura .....	26
Discusión .....	27
Conclusión .....	29
Referencias .....	30

## RESUMEN.

En el estriado la depleción dopaminérgica causada a través de la lesión unilateral de la vía nigroestriada con 6-hidroxidopamina (6-OHDA) induce severas alteraciones funcionales de origen neuroquímico, electrofisiológico y ultraestructural. Uno de los métodos empleados para revertir estos cambios es el implantar tejido catecolaminérgico en contacto con el estriado denervado. Mediante esta aproximación se han presentado diversos estudios que muestran que el trasplante disminuye las alteraciones funcionales, neuroquímicas y electrofisiológicas producto de la depleción de dopamina estriada. Incluso se encontró que el trasplante establece conexiones sinápticas con el tejido anfitrión, sin embargo no existen reportes que indiquen que sucede con las alteraciones a nivel del neuropilo del núcleo caudado. Así este experimento tiene como objetivo estudiar si el trasplante intraventricular de tejido mesencefálico fetal colocado ipsilateralmente revierte las alteraciones ultraestructurales en el neuropilo del núcleo caudado causadas por la denervación unilateral de dopamina. Los experimentos se realizaron en ratas macho de la cepa Wistar, algunas de las cuales fueron lesionadas con 6-OHDA (8 $\mu$ g en 4 $\mu$ l de solución vehículo), mientras que en otros animales se inyectó únicamente solución vehículo. Con el propósito de evaluar el grado de denervación dopaminérgica se registró el giro inducido por la aplicación de apomorfina (0.25mg/Kg i.p.) en las semanas 3 y 5 después de la lesión. Se emplearon únicamente aquellas ratas que siendo lesionadas con 6-OHDA, en ambas evaluaciones mostraron 300 ó más giros durante un período de 30 minutos de observación. 40 días después de la lesión se formaron tres grupos de animales: *Gpo. Control* (n=5) - animales con inyección de la solución vehículo, *Gpo. Lesión* (n=5) - animales con depleción dopaminérgica, *Gpo. Gelfoam* (n=5) - animales con depleción dopaminérgica y trasplante de 1 $\mu$ l de gelfoam en el ventrículo ipsilateral a la lesión, y *Gpo. Trasplante* (n=5) - animales con depleción dopaminérgica y trasplante intraventricular de 1 $\mu$ l de tejido mesencefálico fetal. En todos los grupos durante las semanas 2, 4, 6 y 8 después del trasplante se realizaron nuevamente pruebas de giro inducido. Al término del período de evaluación se fijó el tejido cerebral y se tomó un fragmento del cuadrante dorsomedial de la cabeza del núcleo caudado ipsilateral a la lesión para procesarse bajo la técnica convencional de microscopía electrónica de transmisión. Del tejido incluido en resina se realizaron cortes finos los cuales se montaron en rejillas de cobre y se contrastaron. Los cortes se observaron en un microscopio electrónico, fotografiándose 25 botones sinápticos por rata. Con la ayuda de un programa computarizado de análisis de imagen se analizó el arreglo ultraestructural. Nuestros resultados muestran que en el grupo trasplante disminuyó el número de giros inducidos por apomorfina y tanto en el grupo trasplante como en el grupo gelfoam se revirtió el incremento en el área de los botones sinápticos, alteraciones producto de la depleción unilateral de la dopamina estriada. Estos datos dan indicios de que existen factores en el tejido anfitrión que son benéficos para él mismo y que se activan gracias a los daños mecánicos producidos por el implante.

## INTRODUCCIÓN:

La muerte celular en el sistema nervioso, usualmente se traduce en la manifestación de algunas enfermedades. Los ganglios basales se encuentran entre las estructuras cerebrales más frecuentemente afectadas por procesos neurodegenerativos, manifestandose generalmente como trastornos del movimiento. Los ganglios basales son un conjunto de núcleos cerebrales subcorticales estrechamente interconectados entre si, los cuales son el mayor eslabón subcortical entre las áreas sensoriales y motoras de la corteza cerebral y son un sitio de convergencia e integración de diversas aferencias (DeLong, 1974). Entre las enfermedades neurodegenerativas que afectan a los ganglios basales destaca la enfermedad de Parkinson, que se caracteriza por movimientos involuntarios con disminución de la fuerza muscular de los segmentos inmóviles, con tendencia a la inclinación del tronco hacia delante, así como marcha acelerada, sin alteración intelectual ni de los órganos de los sentidos.

La enfermedad de Parkinson tiene como característica principal la muerte de las neuronas dopaminérgicas de la *substancia nigra* compacta (Hornykiewicz, 1966); neuronas que normalmente inervan el cuerpo estriado. La pérdida de estas neuronas provoca el decremento de los niveles normales de dopamina en el cuerpo estriado. La pérdida celular en la *substancia nigra* y la dopamina estriatal implica un desbalance que afecta a las otras estructuras que conforman los ganglios basales.

Se ha demostrado que en los pacientes afectados por la enfermedad de Parkinson, las neuronas del cuerpo estriado, que normalmente reciben inervación de las neuronas dopaminérgicas, se encuentran atrofiadas, esto es, las dendritas de estas neuronas están hinchadas y con marcado decremento del número de espinas dendríticas (McNeil y cols., 1988). Así mismo se observa una disminución de la serotonina y la norepinefrina (Bernheimer y cols., 1973; Langston y cols., 1987), acompañado por el decremento en la actividad de las enzimas biosintéticas de las catecolaminas: tiroxina hidroxilasa (TH) y dopa descarboxilasa (Lloyd y cols., 1975; Waters y cols., 1988; Pickel y cols., 1992).

## Organización de los Ganglios Basales.

Los ganglios basales son el mayor eslabón subcortical entre las áreas sensoriales y motoras de la corteza cerebral y son un sitio de convergencia e integración de diversas aferencias. La importancia de los ganglios basales en la integración sensoriomotora, se hace evidente al observar los déficits de movimiento, postura y tono muscular que presentan los pacientes con desórdenes en estos núcleos (DeLong, 1974).

Los ganglios basales están formados por cinco núcleos subcorticales que participan entre otras cosas en el control de los movimientos, estos son: el núcleo caudado, el putamen (en conjunto denominados cuerpo estriado), el globo pálido (segmentos interno y externo), el núcleo subtalámico y la sustancia nigra (SN). El núcleo accumbens es considerado como extensión ventral del estriado por su similitud morfológica y anatómica, así como por su origen embriológico (DeLong y Georgopoulos, 1981; Albin y cols., 1989; Alexander y Crutcher, 1990; Wilson, 1990; Coté y Crutcher, 1991).

La SN está ubicada en el mesencéfalo y presenta dos divisiones: una porción ventral llamada *pars reticulata* (SNr) que se asemeja citológicamente al globo pálido y una porción dorsal pigmentada llamada *pars compacta* (SNc), compuesta por células dopaminérgicas cuyos cuerpos neuronales contienen neuromelanina (Carpenter, 1976) pigmento oscuro, el cual parece ser un polímero de la dopamina o sus metabolitos, y que da a la SN su nombre. El globo pálido interno y la SNr constituyen los principales núcleos de salida de los ganglios basales (Carpenter, 1976, 1984; Alexander y Crutcher, 1990).

En el estriado del humano se han descrito siete diferentes tipos de neuronas (Chang y cols., 1982; DiFiglia y cols., 1976; Dimova y cols., 1980; Chang y Kitai, 1982; Gravenland y cols., 1985). Se estima que el 95% de las neuronas estriatales son neuronas espinosas medianas caracterizadas por un cuerpo celular que mide entre 10-20µm de diámetro, estas neuronas proyectan hacia el globo pálido (Chang y cols., 1981) y a la SN (Grofova, 1975; Somogyi y cols., 1981). Contienen ácido gamma aminobutírico (GABA) como neurotransmisor (McGeer y McGeer, 1975; Bolam y cols., 1983; Albin, 1989; Graybiel,

1990). Las neuronas espinosas medianas, además emiten colaterales que establecen contactos sinápticos con las dendritas, las espinas de las dendritas y el soma de otras neuronas espinosas medianas (Wilson y Groves, 1980). Dentro de las neuronas espinosas estriales también existen las neuronas GABAérgicas de proyección, de tamaño mediano, pero con pocas espinas dendríticas (Bolam y Smith, 1981).

Entre las interneuronas estriales sin espinas están las neuronas grandes (con un diámetro de entre 20-30 $\mu\text{m}$ ), las cuales son colinérgicas (Fox, y cols., 1971; Braak y Braak, 1982; Chang y Kitai, 1982; Di Figlia y cols., 1982; Bolam y cols., 1984), y otras más, entre medianas y grandes, algunas de las cuales contienen somatostatina (Di Figlia y cols., 1982) y GABA (McGeer y McGeer, 1975; Bolam y cols., 1983).

Las neuronas espinosas medianas forman el mayor número celular en el estriado. Aunque su morfología es homogénea, estas neuronas, además de contener GABA como neurotransmisor, expresan diferentes neuropéptidos (Penny y cols., 1986), incluyendo substancia P (Hong, y cols., 1977; Bolam y cols., 1983; Brauth y cols., 1983; Christensson-Nylander y cols., 1989), encefalinas (Hökfelt y cols., 1977; Weber y cols., 1982) y dinorfina (Davies y Dray, 1976). Las dendritas de estas neuronas se extienden en un radio de más de 250-300 $\mu\text{m}$  (Wilson y Groves, 1980). Estas dendritas son lisas en las primeras 30 $\mu\text{m}$ , de ahí se ramifican y presentan numerosas espinas dendríticas. Otra característica de estas neuronas es que su axón colateral se distribuye en la misma área que su árbol dendrítico (Bishop y cols., 1982; Wilson y Groves, 1980).

La complejidad del estriado, entre todas las estructuras de los ganglios basales, es ejemplificada por la rica diversidad de neurotransmisores que se han detectado ya sea entre las neuronas estriales o entre las aferencias al estriado. Las evidencias muestran que las neuronas estriales contienen GABA, acetilcolina, Substancia P, somatostatina y péptidos opiáceos, mientras que las aferencias incluyen aquellas que contienen glutamato (proveniente de la corteza y el tálamo), dopamina (de la SNc) y 5-hidroxitriptamina (del rafe dorsal) (Hattori y cols., 1973; Herrera-Marschitz y cols., 1986; Sandler y cols., 1987; Voorn y Buijs, 1987; Reiner y Anderson, 1990; Stoof y cols., 1992; Pickel y cols., 1992;

McGeer y McGeer, 1993; Martone y cols., 1993; Østergaard, 1993; Angulo y McEwen, 1994; White y cols., 1994).

El glutamato está asociado con las vías córtico-estriatal, tálamo-estriatal, tálamo-cortical y subtálamo-palidal (Sandler y cols., 1987; Bolam e Izzo, 1987; Graybiel, 1990; Carlsson y Carlsson, 1990; McGeer y McGeer, 1993). El GABA interviene en las vías pálido-talámica, SNr-tálamo, SNr-tallo cerebral, intraestriatal, estriato-palidal, pálido-subtalámica y pálido-nigral (McGeer y McGeer, 1975; Albin y cols., 1989; Alexander y Crutcher, 1990; Graybiel, 1990a; McGeer y McGeer, 1993; White y cols., 1994). La dopamina está asociada con la vía nigroestriatal (Andén y cols., 1964; 1965; Fuxe y cols., 1964; Poirier y Sourkes, 1965; Ungerstedt, 1971a; Graybiel, 1990a; Alexander y Crutcher, 1990; McGeer y McGeer, 1993). La acetilcolina se localiza en las interneuronas estriatales (Butcher y Butcher, 1974; Cuello, 1987; Graybiel, 1990a; Alexander y Crutcher, 1990; McGeer y McGeer, 1993; Østergaard, 1993). Y la serotonina con la vía rafe-estriatal (Hattori y cols., 1976; Rebec y cols., 1981; Graybiel, 1990a; Alexander y Crutcher, 1990; McGeer y McGeer, 1993; Angulo y McEwen, 1994). Además el GABA, coexiste con algunos neuropéptidos en varias combinaciones en los circuitos principales y en las interneuronas de los ganglios basales (Hong y cols., 1977; Weber y cols., 1982; Brauth y cols., 1983; Kubota y cols., 1986; Christensson-Nylander y cols., 1986; Reiner y Anderson, 1990; Graybiel, 1990a; Pickel y cols., 1992; Angulo y McEwen, 1994). La ausencia de dopamina por la muerte de las neuronas en la Snc provoca severos desequilibrios entre todos estos neurotransmisores.

En la tabla se presenta un resumen de las aferencias que tienen contacto con las neuronas espinosas estriales señalándose la zona de contacto, tipo de contacto, origen de la aferencia y neurotransmisor relacionado.

## AFERENCIAS A LAS NEURONAS ESPINOSAS MEDIANAS ESTRIALES.

ESTRUCTURA DE CONTACTO SINÁPTICO	TIPO DE CONTACTO	ORIGEN	NEUROTRANSMISOR
ESPIÑA DENDRÍTICA CABEZA	ASIMÉTRICO	CORTEZA y TÁLAMO	GLUTAMATO
	SIMÉTRICO	SN <sub>c</sub>	DOPAMINA
CUELLO  DENDRITA DISTAL	ASIMÉTRICO	NEU. ESP. MEDIANA	GABA, SP, ENC
	ASIMÉTRICO	INTERNEURONAS	ACh, SOM
	SIMÉTRICO	CORTEZA	GLUTAMATO
	SIMÉTRICO	NEU. ESP. MEDIANA	GABA, ENC
SOMA Y DENDRITA PROXIMAL	SIMÉTRICO	SN <sub>c</sub>	DOPAMINA
	SIMÉTRICO	INTERNEURONAS	ACh, SOM
	SIMÉTRICO	NEU. ESP. MEDIANA	GABA, SP, ENC
		SN <sub>c</sub>	DOPAMINA

ABREVIATURAS: ACh, acetilcolina; ENC, encefalina; Som, somatostatina; SP, substancia P.  
Modificado de Gerfen (1988).

## Modelo experimental.

Ungerstedt, en 1971(a), presentó los resultados de sus experimentos en los cuales empleando ratas, causó la destrucción selectiva de la substancia nigra mediante la inyección de la neurotoxina 6-Hidroxidopamina (6-OHDA). La muerte selectiva de las neuronas dopaminérgicas se realiza inyectando la neurotoxina directamente en la substancia nigra, o en la vía nigroestriada. La 6-OHDA es introducida por las neuronas catecolaminérgicas a través de los sistemas de recaptura de dopamina de alta afinidad, provocando la acumulación intraneuronal de compuestos citotóxicos que afectan a las terminales axónicas y a los cuerpos celulares (Heikkila y Cohen, 1971; Zigmond y cols., 1990).

Estas lesiones eliminan la mayor parte de la inervación dopaminérgica al estriado; se sabe que la inyección de la 6-OHDA en el haz medial del cerebro anterior disminuye las concentraciones de dopamina en el núcleo caudado en cerca del 95% (Ungerstedt, 1971b). La respuesta de las neuronas estriales a la ausencia de dopamina, es el incremento en el número de receptores dopaminérgicos postsinápticos, fenómeno conocido como

hipersensibilidad por denervación y que surge a partir de la necesidad del sistema para aprovechar la dopamina existente (Ungerstedt, 1971a; b; Christie y Crown, 1971; Miller y Beninger, 1991).

Inmediatamente después de la lesión las ratas muestran negligencia sensorial ipsilateral a la lesión así como tendencia espontánea a caminar en círculo ("girar" o "rotar") en dirección al lado de la lesión -giro ipsilateral- (Zager y Black, 1988; Borges, 1988; Becker y cols., 1990). Ungerstedt (1971a) también exploró los efectos de los agonistas dopaminérgicos sobre las funciones motoras encontrando que al aplicar agonistas directos como la apomorfina, las ratas presentaban movimientos rotatorios exacerbados formando círculos hacia el lado contralateral a la lesión.

El giro también puede ser inducido con la administración de anfetaminas, que al liberar la dopamina en el caudado contralateral a la lesión (Ungerstedt, 1971b) provocan que el animal lesionado unilateralmente gire típicamente en la dirección ipsilateral, i.e. en dirección opuesta hacia donde el sistema dopaminérgico tiene mayor actividad. El número de giros que el animal emite después de la administración del fármaco se pueden registrar sin dificultad (Segen y Pappas, 1988) y provee una estimación confiable de la extensión en la depleción de dopamina (Schmidt y cols., 1982), de tal forma que si al animal depletado se le administra apomorfina y se registran 100 ó más giros en un período de 30 minutos se puede considerar que la denervación de dopamina equivale a aproximadamente el 95% del total (Ungerstedt, 1971a; Hefti y cols., 1980; Dravid y cols., 1984).

Debido a lo sencillo de la aplicación de la neurotoxina, el mantenimiento y costo de los roedores, comparado con primates, así como a la facilidad de registrar conductualmente las alteraciones del sistema nigroestriatal éste es uno de los modelos más empleado para investigar aspectos relacionados con la neurodegeneración y recuperación del sistema nervioso central, siendo considerado por algunos autores como un modelo experimental de la enfermedad de Parkinson.

## Otros efectos de la depleción dopaminérgica.

La depleción dopaminérgica unilateral además de tener los efectos antes descritos, incrementa la densidad de los receptores  $D_2$  (Creese, y cols., 1979; Waddington y cols., 1979; Feuerstein y cols., 1981; Heikkila y cols., 1981; Guerin y cols., 1985; Savasta y cols., 1987; 1988; Graham y cols., 1990; Joyce, 1991a; 1991b; Radja y cols., 1993; Qin y cols., 1994) y decrementa la densidad de los receptores  $D_1$ , comparado con el estriado de animales control (Savasta y cols., 1987; Ariano, 1988; 1989; Marshall y cols., 1989; Joyce, 1991a; 1991b; Radja y cols., 1993; Qin y cols., 1994).

Aunado a las diversas alteraciones químicas, se ha descrito que en el estriado depletado de dopamina hay decremento en la expresión de los genes precursores de las encefalinas y las taquininas (Sivam y col., 1987; Voorn y cols., 1987b), así como incremento en las concentraciones de las proencefalinas y el GABA y sus respectivos RNAm (Vernier y cols., 1988), aumento en la inervación serotoninérgica (Descarries y cols., 1992) y disminución de los niveles de la sustancia P, dinorfinas y sus respectivos RNAm (Voorn y cols., 1987b; Smith y cols., 1993). También se ha descrito la pérdida del control inhibitorio que tiene la serotonina sobre la liberación de acetilcolina (Joyce, 1991a; Descarries y cols., 1992), liberación anormal de acetilcolina en el estriado lesionado (DeBoer y cols., 1993), incremento de los sitios de recaptura de acetilcolina (Joyce, 1991b), así como incremento en la expresión de la proteína ácida fibrilar glial en ambos estriados, sobre todo en el ipsilateral a la lesión (Jedrzejewska y cols., 1990; Sheng y cols., 1993).

Actualmente gracias a diversas investigaciones electrofisiológicas se sabe que la denervación de dopamina estriar produce aumentos en la frecuencia de las descargas espontáneas en las neuronas estriales (Ohye y cols., 1970; Ungersted y cols., 1975; Arbuthnott, 1976; Siggins y cols., 1976; Schultz y Ungerstedt, 1978; Galarraga y cols., 1987; Diloreto y cols., 1996; Strömberg y Bickford, 1996).

Además de inducir las alteraciones antes descritas, la depresión dopaminérgica inducida por la neurotoxina 6-OHDA provoca también alteraciones ultraestructurales.

Diversos estudios muestran que en el estriado denervado de dopamina, se observa un incremento en el número de contactos axodendríticos asimétricos, además de que los botones sinápticos son más grandes, comparados con las ratas control a partir de los doce días postlesión (Ingham y cols., 1991; 1993; Pickel y cols., 1992). Por otra parte, Jedrzejewska y colaboradores (1990), encontraron la existencia de cuerpos multivesiculares, células oscuras, y alteraciones en los organelos -principalmente las mitocondrias- que se encontraban hinchadas y con la matriz densa.

Investigando la evolución de las alteraciones ultraestructurales inducidas por la lesión unilateral de la vía nigroestriatal se ha descrito que el tamaño de los botones sinápticos localizados en el neuropilo del núcleo caudado ipsi y contralateral a la lesión se ve incrementado por efecto de la lesión, presentando además alteraciones en la distribución de las vesículas sinápticas, pérdida en el número de contactos sinápticos con las espinas dendríticas y mayor número de contactos sinápticos dobles al compararse con observaciones hechas en animales con falsa lesión (inyección de solución salina). Dichas alteraciones son progresivas alcanzando su máximo hacia los 60-120 días postlesión, pero son estadísticamente significativas a partir de los 40 días postlesión (Avila-Costa, 1995).

Ingham y colaboradores (1991b) encuentran que al eliminar unilateralmente la vía nigroestriatal con 6-OHDA, el diámetro de los botones encefalinérgicos aumentó significativamente. Por su parte Pickel y colaboradores (1992), efectuaron lesiones unilaterales con esta misma neurotoxina en ratas neonatas, y describen que los botones inmunorreactivos a TH también aumentaron de tamaño cuando las ratas lesionadas ya eran adultas. Además, estas observaciones han sido confirmadas mediante el análisis ultraestructural del núcleo caudado de pacientes con enfermedad de Parkinson (Colín-Barenque, 1994), en los que se observan alteraciones en el tamaño de los botones sinápticos.

## Recuperación de las funciones a través del trasplante de tejido dopaminérgico.

El modelo propuesto por Ungerstedt (1971a) fue aceptado rápidamente y se emplea como un modelo animal de la enfermedad de Parkinson. De hecho gran parte de los estudios sobre trasplantes intracerebrales se han realizado empleando este modelo. Dos estudios realizados en diferentes laboratorios por Perlow y colaboradores (1979), y por Björklund y Stenevi (1979) mostraron que el tejido fetal de mesencéfalo ventral, el cual contiene la sustancia nigra en desarrollo, al ser colocado en el ventrículo ipsilateral a la lesión o en una cavidad dorsal en la cabeza del caudoputamen reduce los síntomas del parkinsonismo inducido en ratas por la inyección de 6-OHDA en la vía nigroestriatal. Posteriormente Freed y colaboradores (1980) encuentran que las concentraciones de dopamina aumentan en las zonas adyacentes al trasplante y que estas concentraciones están relacionadas con la disminución en el giro inducido, cambio que en los animales que él registró persiste hasta 6 meses después del trasplante. Debido a los resultados favorables los trabajos sobre los efectos del trasplante de células catecolaminérgicas al núcleo caudado o al ventrículo se realizan principalmente en ratas con depleción unilateral de la dopamina estriatal.

Basándose en las estimaciones de los contenidos de dopamina y sus metabolitos se ha propuesto que los cambios conductuales observados en los animales transplantados son debidos a la difusión de la dopamina liberada desde el tejido transplantado, ejerciendo su efecto sobre los receptores hipersensibles (Freed y cols., 1980; 1981; 1983; 1985; Lescudron y Stein, 1990; Björklund, 1991; Lindvall 1991a; 1991b).

Con el empleo de autorradiografías que revelan el consumo de  $^{14}\text{C}$ -2-Deoxi-D-glucosa Schmidt y colaboradores (1982; 1983) encuentran que los trasplantes de tejido dopaminérgico en el interior del caudado denervado mantiene los niveles metabólicos en un grado similar al observado en SNC *in situ*. Histoquímicamente se ha encontrado el incremento bilateral en la actividad metabólica de las mitocondrias estriales después del

implante estrial de tejido dopaminérgico (Collier y cols., 1997).

A través de la cromatografía líquida de alta presión se ha establecido que el tejido transplantado es capaz de sintetizar y liberar dopamina (Freed y cols., 1980; 1981; 1983; 1985; Schmidt y cols., 1982; 1983; Strömberg y cols., 1984). Becker y colaboradores (1988; 1990) y Takashima y colaboradores (1992) empleando esta misma técnica encontraron incremento en las concentraciones de dopamina y sus metabolitos en el líquido cefalorraquídeo y el suero sanguíneo pero no en el caudado denervado de los animales transplantados intraventricularmente, proponiendo al torrente sanguíneo como el vehículo por donde viaja la dopamina hacia el estriado denervado. La cromatografía líquida ha revelado también que en animales lesionados unilateralmente y transplantados intraestrialmente con tejido dopaminérgico, se observa un incremento considerable en las concentraciones de dopamina y sus metabolitos, incremento relacionado con la sobrevivencia de las células inmunoteñidas para TH (Strömberg y cols., 1984; Nishino y cols., 1988; 1990; Brundin, 1988; Rioux y cols., 1991; Moukhles y cols., 1992; Walters y cols., 1992; Hori y cols., 1993; Elsworth y cols., 1996) y células que contienen RNAm para TH, demostrado mediante hibridación *in situ* (Nishino y cols., 1990). También se ha sugerido que el trasplante del mesencéfalo es capaz de elevar significativamente la densidad de los transportadores de la dopamina que se ve afectada por la depleción dopaminérgica estrial (Elsworth y cols., 1996).

El trasplante ipsilateral empleando tejido dopaminérgico ha mostrado tener un efecto más extenso que los resultados antes descritos. La observación de los trasplantes en el microscopio de luz y en el microscopio electrónico ha mostrado que el tejido transplantado desarrolla neuritas que se extienden hacia el tejido anfitrión y que son capaces de establecer contactos sinápticos con éste (Mahalik y cols., 1985; Bolan y cols., 1987; Nishino y cols., 1990; Moukhles y cols., 1992; Gopinath y cols., 1996; Kordower y cols., 1997; Björklund y Strömberg, 1997).

Las observaciones hechas con la ayuda del microscopio electrónico indican que los trasplantes intraestriales de tejido mesencefálico tienen apariencia madura hacia las 5-6

semanas de implante, pudiéndose identificar 6 tipos de neuronas y 8 tipos de terminales axónicas formando sinapsis simétricas y asimétricas con los somas, las dendritas, las espinas y los segmentos iniciales del axón de las neuronas del cerebro receptor (Mahalik y cols., 1985). En este mismo período también se encuentran elementos inmunoreactivos a TH pre y post-sinápticos en el estriado receptor; se han observado axones teñidos en contacto sináptico con dendritas sin tinción y algunas dendritas inmunorreactivas que fueron blanco postsináptico de terminales axónicas sin tinción (Mahalik y cols., 1985; Nishino y cols., 1986; Mendez y cols., 1993).

El implante de tejido dopaminérgico puede revertir el incremento en la densidad de receptores  $D_2$ , observada en el caudado depletado de dopamina, llevando dicha densidad a niveles del caudado contralateral (Freed y cols., 1983; Blunt y cols., 1992), y salvo un leve incremento en la densidad de los receptores  $D_1$  localizados en el área lateral del estriado, el trasplante parece no tener efecto sobre la densidad de estos receptores, los que se encuentran disminuidos después de la inyección unilateral de 6-OHDA (Blunt y cols., 1992). Apoyando estas observaciones Chritin y cols. (1992) encontraron que la expresión de RNAm proexpresión de receptores  $D_2$  se revierte en la zona dorsolateral de los estriados ipsi y contralateral a la lesión después de un mes postransplante.

Entre los cambios químicos descritos después del trasplante catecolaminérgico se encuentra la normalización en la expresión del RNAm de las preproencefalinas, RNAm de las preprotaquininas (Cadet y cols., 1991; Mendez y cols., 1993; Cenci y cols., 1993) y disminución en la densidad de expresión del neuropéptido Y (Moukhes y cols., 1992). Cabe señalar que el tratamiento con L-DOPA en ratas lesionadas unilateralmente también puede revertir algunas de las alteraciones presentadas en el estriado de animales denervados de dopamina, afecta la expresión del RNAm precursor de las preproencefalinas, preprotaquininas y preproglutamato descarboxilasa (Zeng y cols., 1996).

Electrofisiológicamente se ha descrito que la lesión unilateral de la vía dopaminérgica nigroestriada produce un incremento en el número de neuronas estriales con

descarga espontánea e incrementa la tasa de disparos de las mismas, y que el trasplante es capaz de disminuir significativamente dichos incrementos (Diloreto y cols., 1996; Strömberg y Bickford, 1996).

## Transplantes dopaminérgicos en humanos.

Respecto al funcionamiento de los trasplantes de mesencéfalo fetal implantado en humanos se han realizado cirugías colocando el tejido en bloque o suspensión. En los casos en que el tejido es colocado en contacto con elgado-pujamen, preferentemente en el cuadrante dorso medial, se ha descrito la disminución de los síntomas de la enfermedad de Parkinson, registrándose mejoras en la postura y velocidad de los movimientos, por periodos de hasta 3 años, coincidiendo con aumento en la recaptura de fluorodopa tritiada demostrado mediante tomografía por emisión de positrones (Lindvall y cols., 1992; 1994; Spenser y cols., 1992; Hoffer y cols., 1992; Sawle y cols., 1992 ; Zabek y cols., 1994). Incluso existen investigaciones que señalan la restauración bilateral en la síntesis de fluorodopa tritiada en estriado, y que se relaciona con la sobrevivencia del tejido transplantado y reinervación del estriado receptor (Spencer y cols., 1992, Kordower y cols., 1997;1998).

En humanos varios investigadores han optado por la alternativa del trasplante autólogo de médula adrenal (Backlund y cols., 1985; Madrazo y cols., 1987; Freed y cols., 1981; Strömberg y cols., 1984; Lieberman y cols., 1989) que contiene células cromafines las cuales producen cantidades importantes de catecolaminas (Kirshner, 1975). Los trasplantes autólogos de médula adrenal colocados en el parénquima estrial han presentado resultados contradictorios, de tal forma que mientras algunos autores señalan cambios favorables en las alteraciones motoras y sobrevivencia del trasplante con células y fibras inmunorreactivas a TH (Bakay y cols, 1990; Kordower y cols., 1991; Diamont y cols., 1994), otras investigaciones mencionan cambios temporales con mejoras en la postura y en el desempeño de pruebas estandarizadas en periodos de 2 semanas a 6 meses, con posterior regreso en el desempeño a niveles preoperatorios (Choi y cols., 1990; Bakay y

cols., 1990; López-Lozano y cols., 1991; Zhang 1992), sobre todo en transplantes que finalmente presentaron pocas células inmunorreactivas a TH y con procesos necróticos en el tejido implantado y sus alrededores (Østergaard y Rasmussen, 1991). Incluso ha sucedido que después del transplante de tejido dopaminérgico no se encuentran cambios en las alteraciones motoras (Machado-Salas y cols., 1990; Chung y cols., 1994), en los metabolitos dopaminérgicos, ni en la actividad eléctrica cerebral (Machado-Salas y cols., 1990).

## OBJETIVO:

Estudiar los efectos del transplante intraventricular de tejido mesencefálico fetal sobre las alteraciones ultraestructurales causadas por la denervación unilateral de dopamina en el neuropilo del núcleo caudado.

cols., 1990; López-Lozano y cols., 1991; Zhang 1992), sobre todo en trasplantes que finalmente presentaron pocas células inmunorreactivas a TH y con procesos necróticos en el tejido implantado y sus alrededores (Østergaard y Rasmussen, 1991). Incluso ha sucedido que después del trasplante de tejido dopaminérgico no se encuentran cambios en las alteraciones motoras (Machado-Salas y cols., 1990; Chung y cols., 1994), en los metabolitos dopaminérgicos, ni en la actividad eléctrica cerebral (Machado-Salas y cols., 1990).

## OBJETIVO:

Estudiar los efectos del trasplante intraventricular de tejido mesencefálico fetal sobre las alteraciones ultraestructurales causadas por la denervación unilateral de dopamina en el neuropilo del núcleo caudado.

## MÉTODOS:

Los experimentos se llevaron a cabo en ratas macho de la cepa Wistar, las cuales pesaban entre 180-200 grs. al inicio del experimento y se mantuvieron en un ciclo de luz-obscuridad 12:12hrs. con libre acceso al agua y al alimento.

Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (35mg/kg i.p.) y por métodos estereotáxicos se realizó la lesión unilateral del haz medial del cerebro anterior izquierdo inyectando 8µl de 6-hidroxidopamina en 4µl de solución salina con 0.2 mg de ácido ascórbico (veinucio), durante un periodo de 5 minutos. Como control, en algunos animales se inyectó únicamente 4µl de la solución vehículo, utilizando las mismas coordenadas y siguiendo el procedimiento empleado para la lesión con la 6-OHDA. Las coordenadas utilizadas fueron: anteroposterior: -4 mm y lateral: 1.4 mm a partir de bregma, y vertical: -7.7mm a partir de las meninges (de acuerdo a Paxinos y Watson, 1986). Con el propósito de evaluar el grado de denervación dopaminérgica se registró el giro inducido por apomorfina (0.25 mg/kg i.p.) en las semanas 3 y 5 después de la lesión. Se emplearon únicamente aquellas ratas que siendo lesionadas con 6-OHDA mostraron 300 ó más giros durante un período de 30 minutos de observación, en ambas evaluaciones.

40 días después de la lesión algunos animales fueron transplantados con el mesencéfalo ventral extraído de fetos con 17-18 días de gestación. Con métodos estereotáxicos se inyectó 1µl de tejido de forma directa después de la disección, colocando los trozos de mesencéfalo en la punta de una micropipeta de vidrio acoplada a una microjeringa Hamilton.

Se formaron cuatro grupos de animales:

Grupo Control (n=5) - animales sin destrucción de la vía dopaminérgica nigroestriatal.

Grupo Lesión (n=5) - animales con lesión de la vía dopaminérgica nigroestriatal.

Grupo Gelfoam (n=5) -animales con lesión de la vía dopaminérgica nigroestriatal y trasplante de 1µl de gelfoam (gelatina purificada absorbible por los tejidos corporales) en el ventrículo ipsilateral a la lesión en las mismas condiciones y coordenadas que el

grupo trasplante.

Grupo Trasplante (n=5) -animales con destrucción de la vía dopaminérgica nigroestriatal e inyección de 1µl de tejido mesencefálico en el ventrículo ipsilateral a la lesión, en las coordenadas 0.2 mm anteroposterior y 1.3 mm lateral partiendo de bregma, y -4.8 mm vertical a partir de meninges.

En todos los grupos durante las semanas 2, 4, 6 y 8 después del trasplante o correspondientes (en los grupos sin trasplante) nuevamente se evaluó el giro inducido por apomorfina (0.25 mg/kg i.p.).

Al término del periodo de evaluación, cada animal se perfundió por vía intracardiaca pasando 150 ml de solución salina (al 0.9 M, p.H. = 7.4), y fijando con una mezcla de 300 ml de paraformaldehído (al 4%) y glutaraldehído (0.5%) (en buffer fosfatos al 0.1 M, p.H. = 7.4). Una vez perfundidos los animales, se extrajeron los cerebros y se colocaron en el mismo fijador por 2 hrs. Se tomó un fragmento del tejido, que en todos los casos correspondió al cuadrante dorso medial de la cabeza del núcleo caudado ipsilateral a la lesión, y se procesaron mediante la técnica convencional para microscopia electrónica de transmisión. Después de lavar los fragmentos en PBS, se colocaron durante una hora en tetraóxido de osmio al 1% en PBS para la postfijación; posteriormente los fragmentos fueron lavados con PBS en tres cambios de 10 minutos cada uno. El siguiente paso consistió en la deshidratación del tejido con alcoholes en concentraciones crecientes (del 50% al 100%); el tejido fue bañado en cada concentración de alcohol (de 50 a 90%) durante lapsos de 10 minutos. Posteriormente el tejido se colocó en alcohol al 100% por tres ocasiones de 10 minutos cada una. Finalmente, el tejido se colocó en óxido de propileno durante dos periodos de 10 minutos cada uno. Para la infiltración los fragmentos se sumergieron durante una hora en una mezcla de resina 1:1 araldita-óxido de propileno a 60°C, por 12 horas en una mezcla 2:1 a temperatura ambiente, y finalmente se incluyeron en araldita pura a 60°C durante 24 horas.

Una vez polimerizada la resina, se procedió a realizar los cortes finos de aproximadamente 900Å en un ultramicrotomo Reichert-Jung utilizando cuchillas de vidrio.

Se montaron los cortes en rejillas de cobre y se contrastaron con acetato de uranilo al 5% durante 20 minutos y con citrato de plomo al 0.4% por un período de cinco minutos. Los cortes se observaron en un microscopio electrónico Jeol Jem 100 CX II, fotografiándose 25 botones sinápticos de tejido proveniente del núcleo caudado ipsilateral por rata.

Se digitalizo la imagen de los negativos mediante un scanner (ScanJet 4c/T de Hewlett Packard) y se prosiguió al análisis ultraestructural, que consistió en la medición de los 25 botones presinápticos mediante un programa de análisis de imágenes computarizado (Image-Pro Plus, versión 3.0.1, Media Cybernetics) considerándose los siguientes parámetros:

- Área del botón presináptico.
- Longitud de la zona activa.
- Distribución de las vesículas sinápticas. Estas se dividieron en: *dispersas* de dos tipos (aquéllas que ocupen más de 50% de la superficie del botón sináptico y aquéllas que ocupen menos del 50% de la superficie), *concentradas* (clasificadas bajo la misma lógica que las dispersas) y *mixtas* (que contengan vesículas dispersas y concentradas en el mismo botón, sin especificar cantidad).
- Tipo de contacto sináptico (simétrico o asimétrico).
- Estructura postsináptica (espinas o dendritas).
- Número de sinapsis establecidas con la misma estructura (simple, doble u otras - más de dos contactos con una misma estructura-).

## ESTADÍSTICA.

Para comparar el giro inducido, el diámetro de los botones sinápticos y la longitud de la zona activa se empleó la prueba t para muestras pareadas (comparación intrasujetos), y ANOVA para la comparación entre grupos.

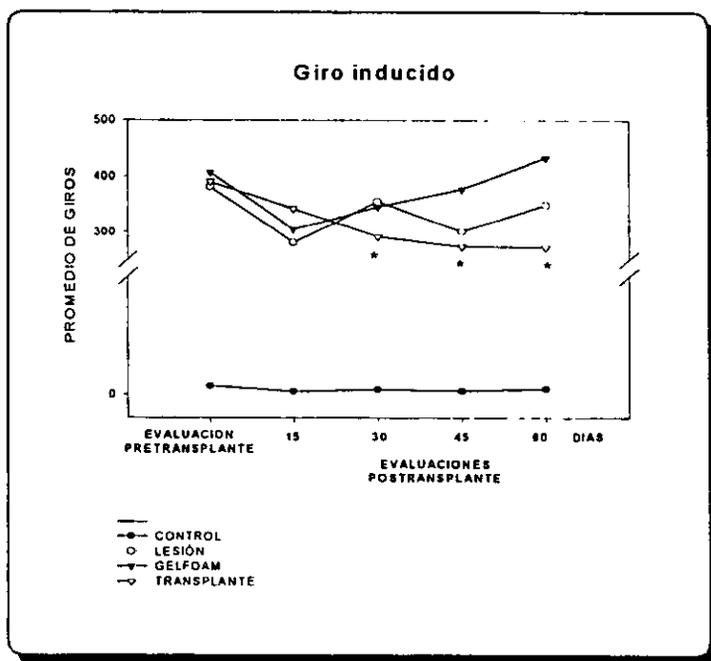
En cuanto a la distribución de las vesículas sinápticas, el tipo de contacto sináptico el número de sinapsis establecidas con la misma estructura y el tipo de estructura postsináptica se empleó la prueba de Wilcoxon (comparación intrasujetos) y la prueba de Kruskal-Wallis para la comparación entre grupos.

## RESULTADOS:

### ASPECTOS MOTORES

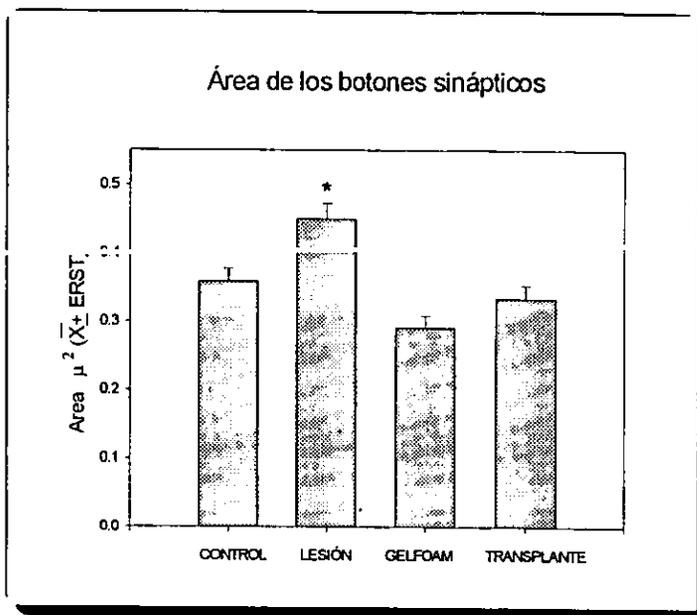
La comparación del número de giros inducidos por apomorfina reveló que en las evaluaciones pretransplante no hubo diferencias significativas entre los grupos con lesión de la vía dopaminérgica nigro-estriatal ( $p > 0.05$ ), el grupo control no mostró giro inducido.

Respecto al efecto de los transplantes de sustancia nigra sobre la conducta de giro inducida por apomorfina, nuestros resultados muestran que este grupo presentó una disminución global significativa del giro de cerca del 21% ( $p < 0.05$ ) (gráfica 1).



**Gráfica 1.-** Número de giros inducidos por apomorfina. El transplante de sustancia nigra disminuyó gradual y significativamente el promedio de giros (\* =  $p < 0.05$  gpo. Transplante V.S. gpo. Lesión y Gelfoam), mientras que los grupos lesión y gelfoam presentan incremento en el promedio de giros.

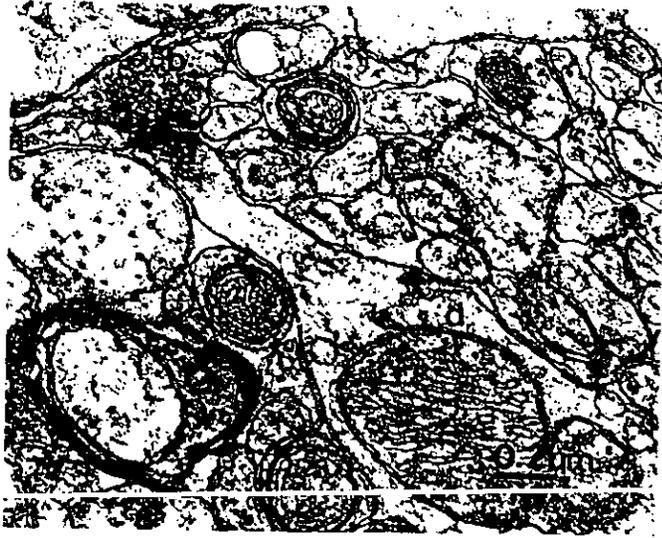
## ÁREA DE LOS BOTONES SINÁPTICOS.



Gráfica 2.- Tamaño promedio de los botones sinápticos en cada uno de los grupos estudiados. Se observa que la lesión de la vía nigro estriada induce el aumento del área de los botones sinápticos ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, tanto el implante de gelfoam como el de sustancia nigra revierten el mencionado aumento.

Con respecto al área de los botones sinápticos (gráficas 2, Figura 1 A y B), nuestros datos mostraron que mientras en condiciones normales (grupo control) los botones sinápticos tuvieron una área media de  $0.359 \pm 0.0139 \mu^2$ , la lesión de la vía nigro-estriada produjo que los botones sinápticos aumentaran significativamente su área promedio hasta  $0.450 \pm 0.023 \mu^2$ . Por otro lado, el grupo de animales lesionados y transplantados con gelfoam mostró botones sinápticos con un área media de  $0.292 \pm 0.0181 \mu^2$ , mientras que el área promedio de los botones sinápticos provenientes del estriado de animales del grupo

A



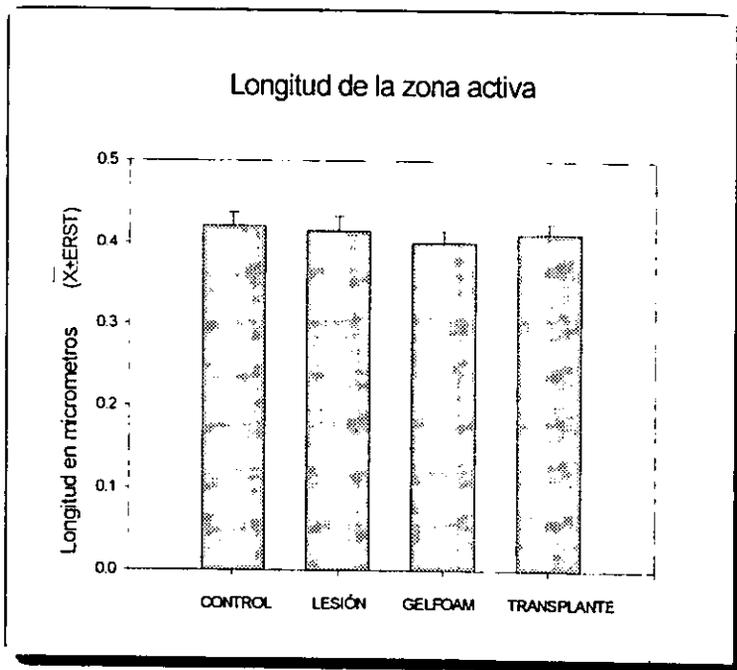
B



Figura 1.-Microfotografías del neuropilo del núcleo caudado ejemplificando en A un botón sináptico de tamaño normal con vesículas concentradas ocupando más del 50% del área del mismo, haciendo un contacto simple asimétrico con una espina dendrítica, obtenido del tejido de un animal del grupo control. En B se muestra un botón sináptico obtenido del estriado denervado de dopamina, el cual por efecto de la lesión muestra un aumento de tamaño. El botón contiene vesículas distribuidas de forma mixtas haciendo dos contactos (→) asimétrico con una dendrita. *b*-botón sináptico, *d*-dendrita, *e*-espina.

transplante fue de  $0.335 \pm 0.019 \mu^2$ . Con los datos anteriores se puede apreciar que los botones sinápticos de los animales lesionados unilateralmente con 6-OHDA son significativamente más grandes que los botones sinápticos de los tres grupos restantes ( $p < 0.05$ ) incluyendo al grupo transplantado con gelfoam. Cabe hacer notar que entre los grupos control, gelfoam y transplante no hubo diferencias significativas en el tamaño de los botones sinápticos ( $p > 0.05$ ).

### LONGITUD DE LA ZONA ACTIVA.



Gráfica 3.- Longitud de la zona activa en las sinapsis de los botones evaluados en los diferentes grupos. Se observa que la longitud de la zona activa no se ve alterada por efecto de la lesión.

Dentro de los parámetros a considerar en este trabajo se tomó la longitud de la zona activa, es decir se estimó el tamaño de la zona de la sinapsis que se diferencia por presentar mayor densidad de membrana (ver Figura 2B). En este parámetro (gráfica 3) se encontró que la longitud media de la zona activa para los botones sinápticos de animales del grupo control fue de  $0.421 \pm 0.016 \mu\text{m}$ , en el grupo lesión este parámetro fue de  $0.415 \pm 0.017 \mu\text{m}$ , mientras que en el grupo gelfoam la media de la longitud de la zona activa fue de  $0.400 \pm 0.015 \mu\text{m}$ , la media de la longitud de la zona activa en el grupo trasplante fue de  $0.411 \pm 0.013 \mu\text{m}$ . Al hacer la comparación entre grupos se encontró que no hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ), así parece la lesión no afecta la longitud de la zona activa.

## DISTRIBUCIÓN VESICULAR.

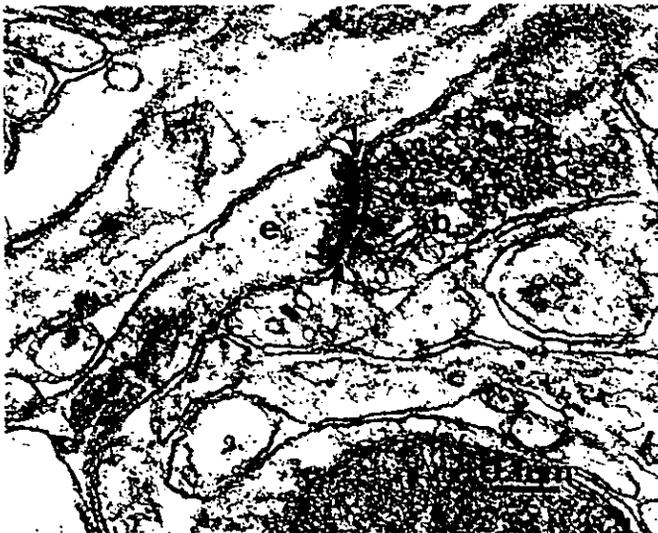
Los resultados del porcentaje de botones sinápticos que presentaron los diferentes tipos de distribución de las vesículas sinápticas (dispersas y concentradas ocupando más del 50% del botón, así como menos del 50% del botón y mixtas -concentradas y dispersas en el interior del mismo botón sináptico-) se muestran en la gráfica 4.

Respecto al tipo de distribución vesicular no hubo diferencias significativas entre los grupos estudiados, en todos ellos predominó la distribución de vesículas concentradas ocupando más del 50% del área del botón (Figuras 1A y 2A) con porcentajes de entre 30 y 45%, siguiendo en frecuencia los botones con distribución de vesículas del tipo mixto (Figuras 1B, 2B, 3A y 3B) con frecuencias de alrededor del 30%, la distribución de vesículas de tipo disperso ocupando más del 50% del área del botón se presentó con porcentajes del 13 al 21% y los tipos de distribución vesicular denominados dispersas y concentradas ocupando menos del 50% del área del botón sináptico se observaron en alrededor del 8% del total de botones observados por grupo.

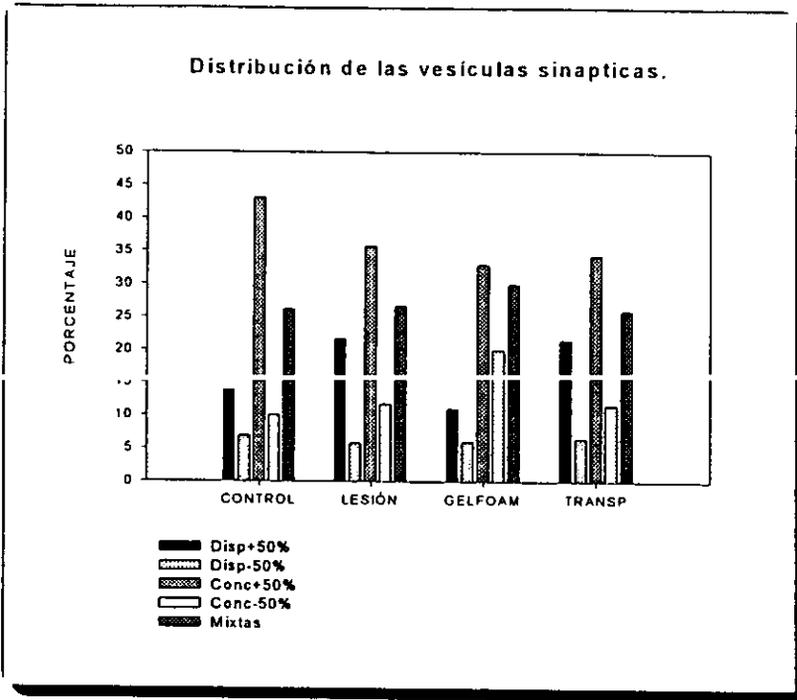
A



B



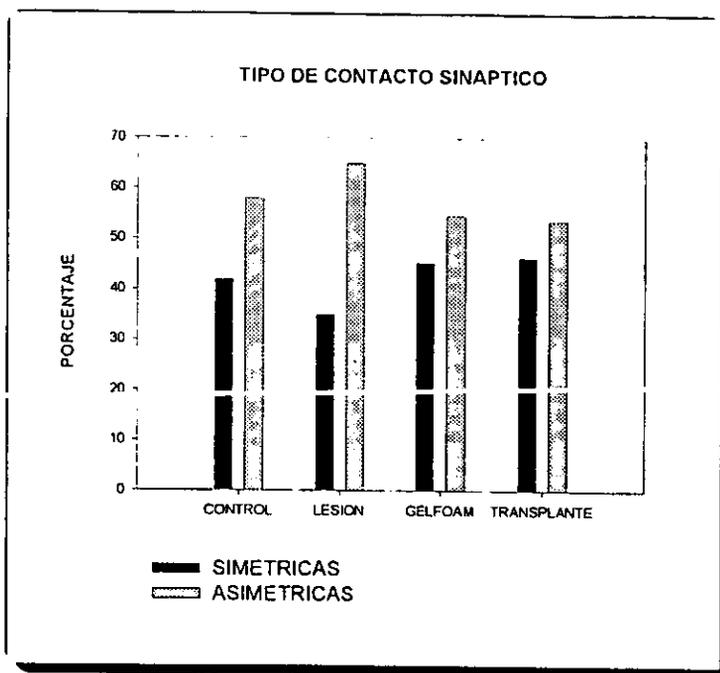
**Figura 2.-** Microfotografías del neuropilo del núcleo caudado donde se puede observar en A un botón sináptico, proveniente del estriado denervado de dopamina con vesículas concentradas ocupando más del 50% del área del botón, en contacto asimétrico con una dendrita. En la microfotografía B se muestra un botón sináptico proveniente del neuropilo del núcleo caudado de un animal transplantado con tejido de sustancia nigra, el botón muestra vesículas distribuidas en forma mixta y hace un contacto asimétrico con una espina dendrítica. En B se señala entre flechas la longitud de la zona activa. *b*-botón sináptico. *d*-dendrita. *e*-espina



**Gráfica 4.-** Tipos de distribución de las vesículas sinápticas para cada uno de los grupos experimentales. Se puede observar que no hubo diferencias en el tipo de distribución de las vesículas sinápticas en los distintos grupos. Disp+50% -vesículas dispersas ocupando más del 50% del área del botón sináptico-, Disp-50% - vesículas dispersas ocupando menos del 50% del área del botón sináptico-, Conc.+50% -vesículas concentradas ocupando más del 50% del área del botón sináptico, Conc -50% -vesículas concentradas ocupando menos del 50% del área del botón sináptico-, Mixtas -vesículas concentradas y dispersas en un mismo botón sináptico-.

## TIPO DE CONTACTO SINÁPTICO

En la gráfica 5 se muestran los resultados del número total de botones sinápticos que establecieron contacto de tipo simétrico o asimétrico con la estructura postsináptica. Como se puede apreciar en todos los grupos predominó el contacto asimétrico, y no hubo diferencias significativas en tres grupos respecto a este rubro (Figuras 2 y 3).



**Gráfica 5.-** Se puede observar que en los cuatro diferentes grupos experimentales predominaron los contactos sinápticos de tipo asimétrico, pero en el grupo lesión la cantidad de contactos asimétricos fue marcadamente mayor en comparación con los contactos simétricos, mientras que en los dos grupos que recibieron transplante -gelfoam y transplante- la distribución de los porcentajes de ambos tipos de contactos son cercanos al 50%.

## ESTRUCTURA DE CONTACTO POSTSINÁPTICO.

En la gráfica 6 se muestra el porcentaje del número total de botones sinápticos que establecieron contacto con las dendritas (Figuras 1B, 2A y 3A) o las espinas dendríticas (Figuras 1B, 2A y 3A). Se puede observar, que en los caudados ipsilaterales a la lesión en los tres grupos lesionados con 6-OHDA la estructura postsináptica que se encontró con mayor frecuencia fue la dendrita, y con mayor énfasis en los grupos lesión (60%) y gelfoam

A

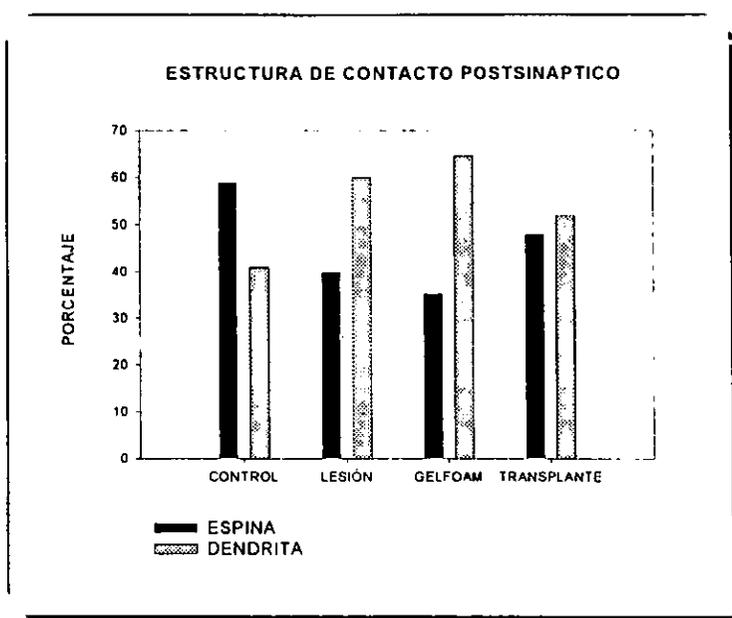


B



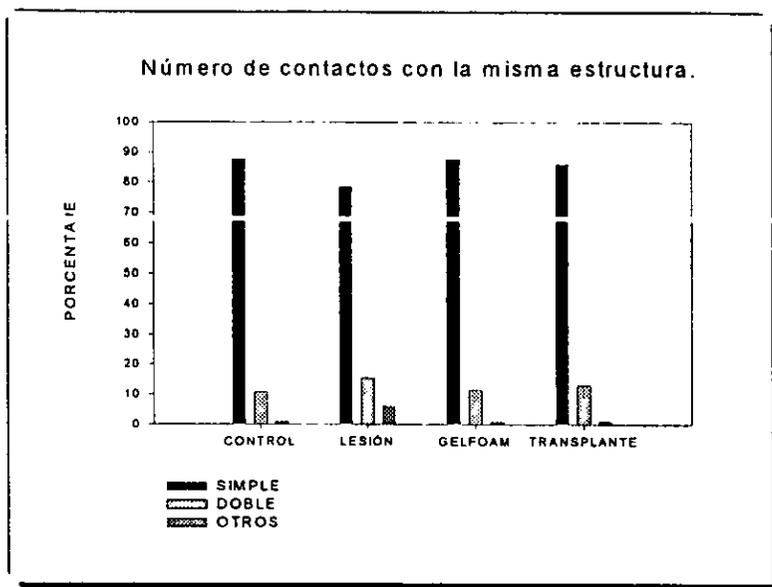
Figura 3.- Microfotografías del neuropilo del núcleo caudado de un animal del grupo gelfoam donde se puede observar en A un botón sináptico conteniendo vesículas distribuidas de forma mixta y que está en contacto simétrico con una dendrita. En la microfotografía B se muestra un botón sináptico, con vesículas distribuidas de forma mixta, el cual hace dos contactos sinápticos con una espina dendrítica. *b*-botón sináptico, *d*-dendrita, *e*-espina.

(64.6%). En el grupo vehículo la estructura postsináptica predominante fue la espina dendrítica (59%), mientras que los contactos sinápticos con dendritas se localizaron con una frecuencia del 41%. El grupo trasplante también presentó porcentajes similares en ambos tipos de estructura postsináptica, pero con una leve ventaja en la cantidad de contactos con dendrita (52%), sin embargo las diferencias entre grupos no fueron significativas.



Gráfica 6.- Botones sináptico que hicieron contacto con una espina dendrítica o con una dendrita en cada uno de los grupos. Se observa que los grupos lesionados con 6-OHDA tuvieron mayor número de contactos con las dendritas, el grupo vehículo presento mayor porcentaje de contactos con las espinas dendríticas, sin embargo las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

## NÚMERO DE CONTACTOS SINÁPTICOS CON LA MISMA ESTRUCTURA



**Gráfica 7.-** Representa en porcentaje la frecuencia de los contactos con la misma estructura. Es evidente que los contactos simples con la estructura postsináptica fueron los más comunes en todos los grupos experimentales, y que el grupo lesión presenta una leve tendencia a la disminución en el número de contactos simples y aumento en la cantidad de contactos denominados "otros", es decir más de dos contactos con una misma estructura.

El último parámetro sinaptológico evaluado en nuestro estudio fue el número de sinapsis que morfológicamente podían ser distinguidas en un solo botón sináptico. La gráfica 7 presenta los resultados del número de botones que establecieron contactos sinápticos simples (Figuras 1A, 2A, 2B y 3A), dobles (Figuras 1B y 3B) u otros (más de dos contactos con una misma estructura-). Se puede apreciar que en todos los grupos predominaron los contactos simples (entre 78 y 87%) y no hubo diferencias significativas( $p > 0.05$ ).

## DISCUSIÓN:

Respecto a los aspectos motores cabe recordar que el único grupo que presentó disminución significativa en la conducta de giro inducida por el agonista dopaminérgico apomorfina fue el grupo con trasplante de sustancia nigra fetal, hecho esperado ya que experimentos previos han comprobado que el colocar tejido dopaminérgico en contacto con el estriado denervado de dopamina induce la recuperación de las funciones motoras (Perlow, y cols., 1979; Björklund y Stenevi, 1979 ; Freed y cols., 1980;1981; 1983; 1985; Lescudron y Stein, 1990; Björklund, 1991; Lindvall 1991a; 1991b).

El análisis ultraestructural de las alteraciones del neuropilo del caudado ipsilateral a la lesión unilateral con 6-OHDA reveló que esta neurotoxina induce incremento del área de los botones sinápticos en el núcleo caudado ipsilateral a la lesión, tal y como había sido descrito previamente (Ingham y cols., 1991; Pickel y cols.,1992; Colín-Barenque, 1994; Avila-Costa, 1995), pero que tanto el trasplante intraventricular de gelfoam como el de sustancia nigra son capaces de revertir dicho incremento hasta niveles similares a los presentados por el grupo control. Lo que nos lleva a suponer que la disminución del tamaño del botón sináptico en los grupos transplantados sea por efecto de la cirugía y no por la presencia de la dopamina estriada. Es decir que el hecho de poner un cuerpo ventricularmente en contacto con el estriado depletado produzca que se inicie una serie de eventos en el cerebro receptor que tienen como resultado la disminución del área de los botones sinápticos estriales.

Aun cuando los antecedentes al respecto son muy escasos cabría la posibilidad de que este efecto sea mediado a través de los factores tróficos. Existen experimentos que muestran que los factores tróficos implantados junto con tejido no dopaminérgico pueden reducir la conducta de giro (Pezzoli y cols.,1988). Sin embargo, la sola infusión de factores de crecimiento neural no es capaz de reducir el giro inducido en ratas con depleción unilateral de dopamina (Strömberg y cols., 1984; Olson y cols., 1985; Pezzoli y cols., 1988). Por otra parte Fiandaca y cols. (1988) al hacer el análisis de la zona intraestriada donde

previamente se transplanto médula adrenal encontraron un incremento en la inmunofluorescencia a TH en la vecindad del tejido transplantado, a pesar de que en el trasplante no se encontraron células inmunorreactivas TH. Mientras que Freed y Cannon-Spoor (1989) señalan que la reinervación del estriado dorsal transplantado con substancia negra se ve favorecida cuando se acompaña de una lesión cortical. Estos resultados dan indicios de que al implantar un cuerpo se daña el área circundante y debido a ello se liberan factores tróficos propios del área que promueven la respuesta plástica del cerebro receptor (Nieto-Sampedro y cols., 1987; Fiandaca y cols., 1988; Freed y Cannon-Spoor, 1989).

Por otro lado gran parte de los botones sinápticos analizados en el presente estudio en los grupos Lesión, Gelfoam y Trasplante muy probablemente no eran dopaminérgicos, ya que la lesión con 6-OHDA produce la muerte selectiva de neuronas dopaminérgicas (Ungerstedt, 1968)--, por lo que presumiblemente los botones restantes se ven afectados por la ausencia de dopamina. Una explicación propuesta al incremento en el tamaño de los botones sinápticos del grupo lesión es la sugerencia de que la dopamina mantiene de alguna manera la integridad estructural de las membranas de las células estriales (Arbuthnott e Ingham, 1993). Entonces es posible que para compensar la pérdida dopaminérgica los botones sinápticos restantes degeneran y ocupan mayor espacio; y en el caso de los grupo trasplante y gelfoam la disminución de los botones sinápticos correspondería al efecto contrario: que al aumentar la dopamina estriar -en el caso del grupo trasplante- y la activación y/o incremento de los factores tróficos debida al daño mecánico que se produce por medio del implante -en ambos grupos- se revierta el efecto.

Finalmente resulta importante señalar que los resultados obtenidos respecto a la longitud de la zona activa, distribución de las vesículas sinápticas, tipo de contacto sináptico, estructura postsináptica y número de sinapsis establecidas con la misma estructura no fueron significativos, lo que se puede deber a que el tiempo esperado entre la depresión dopaminérgica estriar y el implante (40 días) haya sido un periodo demasiado largo de tal forma que las alteraciones ya estaban tan avanzadas que el

transplante no logro revertirlas con efectividad, esto por que se ha encontrado que desde el tercer día de la pérdida de dopamina estriatal hay alteraciones ultraestructurales significativas en el neuropilo (Avila-Costa 1995). Por otra parte se puede pensar que el tiempo de espera entre la implantación del material y la perfusión del animal (60 días) fue un periodo corto que no permitió que el transplante alcanzara su máximo efecto en beneficio del tejido anfitrión, o bien la combinación de las dos propuestas anteriores, sin embargo no existen trabajos que nos puedan dar una pauta a seguir. Aunque tampoco se puede dejar de considerar el hecho de que el tejido haya sido colocado en el ventrículo lateral y que esto dificulte la interacción del tejido anfitrión y la dopamina y/o los factores benéficos que puedan revertir las alteraciones, pues puede suceder que la dopamina y/o los factores tróficos se viertan hacia el líquido cefalorraquídeo y circulen a través de éste difundiendo hacia zonas diferentes al núcleo caudado, existen datos que apoyan esta idea: Becker y colaboradores (1988; 1990) y Takashima y colaboradores (1992) encontraron incremento en las concentraciones de dopamina y sus metabolitos en el líquido cefalorraquídeo y el suero sanguíneo pero no en el caudado denervado de los animales transplantados intraventricularmente con tejido catecolaminérgico.

## CONCLUSIÓN:

Los datos presentados confirman que la depresión unilateral de dopamina provoca un incremento en el área de los botones sinápticos localizados en el cuadrante dorso medial de la cabeza del núcleo caudado ipsilateral, y que los trasplantes intraventriculares de tejido mesencefálico fetal en contacto con el caudado ipsilateral disminuyen el número de giros inducidos por apomorfina.

Nuestros resultados dan indicios de que tanto la implantación intraventricular del tejido mesencefálico fetal como la implantación de gelfoam tienden a revertir el incremento en el área de los botones sinápticos, alteración producto de la depresión unilateral de la dopamina estriatal.

transplante no logro revertirlas con efectividad, esto por que se ha encontrado que desde el tercer día de la pérdida de dopamina estrial hay alteraciones ultraestructurales significativas en el neuropilo (Avila-Costa 1995). Por otra parte se puede pensar que el tiempo de espera entre la implantación del material y la perfusión del animal (60 días) fue un periodo corto que no permitió que el transplante alcanzara su máximo efecto en beneficio del tejido anfitrión, o bien la combinación de las dos propuestas anteriores, sin embargo no existen trabajos que nos puedan dar una pauta a seguir. Aunque tampoco se puede dejar de considerar el hecho de que el tejido haya sido colocado en el ventrículo lateral y que esto dificulte la interacción del tejido anfitrión y la dopamina y/o los factores benéficos que puedan revertir las alteraciones, pues puede suceder que la dopamina y/o los factores tróficos se viertan hacia el líquido cefalorraquídeo y circulen a través de éste difundiendo hacia zonas diferentes al núcleo caudado, existen datos que apoyan esta idea : Becker y colaboradores (1988; 1990) y Takashima y colaboradores (1992) encontraron incremento en las concentraciones de dopamina y sus metabolitos en el líquido cefalorraquídeo y el suero sanguíneo pero no en el caudado denervado de los animales transplantados intraventricularmente con tejido catecolaminérgico.

## CONCLUSIÓN:

Los datos presentados confirman que la depresión unilateral de dopamina provoca un incremento en el área de los botones sinápticos localizados en el cuadrante dorso medial de la cabeza del núcleo caudado ipsilateral, y que los transplantes intraventriculares de tejido mesencefálico fetal en contacto con el caudado ipsilateral disminuyen el número de giros inducidos por apomorfina.

Nuestros resultados dan indicios de que tanto la implantación intraventricular del tejido mesencefálico fetal como la implantación de gelfoam tienden a revertir el incremento en el área de los botones sinápticos, alteración producto de la depresión unilateral de la dopamina estrial.

## REFERENCIAS:

- Albin, R.L., Young, A.B., y Penney, J.B. (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *TINS*. 12,10, 366-375.
- Alexander, G. y Crutcher, M.D. (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: Neural substrates of parallel processing. *TINS*. 13,7, 266-271.
- Andén, N.E., Carlsson, A., Dahlström, A., Fuxe, K., Hillarp, N.A. y Larsson, K. (1964) Demonstration and mapping out of nigro-neostriatal dopamine neurons. *Life Sci*. 3: 523-530.
- Andén, N.E., Dahlström, A., Fuxe, K., y Larsson, K. (1965) Further evidence for the presence of nigro- neostriatal dopamine neurons in the rat. *Am. J. Anat.* 116: 329-333.
- Angulo, J.A. y McEwen, B.S. (1994) Molecular aspects of neuropeptide regulation and function in the corpus striatum and nucleus accumbens. *Brain Res. Rev.* 19: 1-28.
- Arbuthnott, G.W. e Ingham, C.A. (1993) The thorny problem of what dopamine does in psychiatric disease. En: Arbuthnott, G.W. y Emson, P.C.(Ed.) *Progress in Brain Research*, Vol 99. Elsevier Science Publishers B.V. p. 341-350.
- Arbuthnott, G.W. (1976) Supersensitivity of dopamine receptors. En: Bradford, H.F. y Marsden, C.D. (Eds.) *Biochemistry and Neurology*. London, Academic Press. 27-34.
- Ariano, M.A. (1988) Striatal D-1 dopamine receptor distribution following chemical lesion of nigrostriatal pathway. *Brain Res.*, 443, 204-214.
- Ariano, M.A. (1989) Long-term changes in striatal D-1 dopamine receptor distribution after dopaminergic deafferentation. *Neurosci.*, 31, 203-212.
- Avila-Costa, M.R. (1995) Evolución de las alteraciones ultraestructurales del neuropilo del núcleo caudado de rata después de la lesión unilateral de la vía nigroestriatal con 6-hidroxidopamina. Tesis de Maestría en Neurociencias. ENEP- Iztacala. UNAM.
- Backlund, E.O., Granberg, P.O., Hamberger, B., Knutsoon, E., Matensson, A., Seigel, G. y Olson, L. (1985) Transplantation of adrenal medullary tissue to striatum in parkinsonism. First clinical trials. *J. Neurosurg.*, 62, 169-173.
- Bakay, R.A.E., Watts, R.L., Freeman, A., Iuvone, P.M., Watts, N. y Graham, S.D. (1990) Preliminary report on adrenal-brain transplantation for parkinsonism in man. *Stereotactic. Funct. Neurosurg.*, 54, 55, 312-323.

- Becker, J. B. y Freed W. J. (1988). Adrenal medulla grafts enhance functional activity of the striatal dopamine system following nigra lesion. *Brain Res.*, 462, 401-406.
- Becker, J. B., Curran, E.J. y Freed W. J. (1990). Adrenal medulla induced recovery of function in an animal model of Parkinson's Disease: Possible mechanisms of action. *Canadian Journal of Psychology.*, 44,2, 293-310.
- Bernheimer, H., Birmayer, W., Hornykiewicz, O., Jellinger, K. y Seitelberg, F. (1973) Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington clinical morphological and neurochemical correlations. *J. Neurol. Sci.* 20, 415-455.
- Bishop, G.A., Chang, H.T. y Kitai, S.T. (1982) Morphological and physiological properties of neostriatal neurons: An intracellular horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience*, 7: 179-191.
- Björklund, A. y Stenevi, U. (1979). Reconstruction of the nigro-striatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. *Brain Res.*, 177, 555-560.
- Björklund, A. (1991) Neural transplantation: an experimental tool with clinical possibilities. *Trends Neurosci.*, 14, 8, 319-322.
- Björklund, L y Strömberg, I (1997) Dopaminergic innervation of striatal grafts placed into different sites of normal striatum- differences in the tyrosine hydroxylase immunoreactive pattern. *Exp. Brain Res.* 113 (1): 13-23.
- Blunt, S.B., Jenner, P. y Marsden, C.D. (1992) Autoradiographic study of striatal D1 and D2 dopamine receptor in 6-OHDA-lesioned rats receiving foetal ventral mesencephalic grafts and chronic treatment with L-Dopa and carbidopa. *Brain Res.*, 582, 299-311.
- Bolam, J.P. y Smith, A.D. (1981) A second type of striatonigral neuron: A comparison between retrogradely labelled and Golgi stained neurons at the light and electron microscopic levels. *Neurosci.* 6: 2141-2157.
- Bolam, J.P., Somogyi, P., Takagi, H., Todor, I. y Smith, A.D. (1983) Localization of substance P-like immunoreactivity in neurons and nerve terminals in the neostriatum of the rat: a correlated light and electron microscopic study. *J. Neurocytol.* 12:325-344.
- Bolam, J.P., Smith, A.D. y Wainer, B.H. (1984) Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combination of choline acetyltransferase immunocytochemistry. Golgi impregnation and electron microscopy. *Neurosci.* 12: 711-712.
- Bolam, J.P., Freund, T.F., Björklund, A., Dunnett, S.B. y Smith, A.D. (1987) Synaptic input and local output of dopaminergic neurons in grafts that functionally reinnervate the host

neostriatum. *Exp. Brain Res.*, 68, 131-146.

- Bolam, J.P. e Izzo, P.N. (1987) Possible sites of transmitter interaction in the neostriatum: An anatomical approach. En, Sandler, M., Feuerstein, C. y Scatton, B. (Eds.) *Neurotransmitter interactions in the basal ganglia*. Raven Press, N.Y.

- Borges, L.F. (1988). Historical development of neural transplantation. *Appl. Neurophysiol.*, 51, 265-277.

- Braak, H. y Braak, E. (1982) Neuronal types in the striatum of man. *Cell Tissue Res.* 227: 319-342.

Brauth, S.E., Rainer, A., Kitt, C.A. y Karten, H.J. (1983) The substance P- containing striato-tegmental path in reptiles: An immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.*, 219: 305-327.

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

- Butcher, S.G. y Butcher, L.L. (1974) Origin and modulation of acetylcholine activity in the neostriatum. *Brain Res.* 71: 167-171.

- Cadet, J.L., Zhu, S.M., y Angulo, J.A. (1991) Intraestriatal implants of fetal mesencephalic cells attenuate the increases in striatal proenkephalin mRNA observed after unilateral 6-hydroxydopamine-induced lesions of the striatum. *Brain Res. Bull.*, 27, 701-711.

- Carlsson, M. y Carlsson, A. (1990) Interactions between Glutamatergic and monoaminergic system withing the basal ganglia-implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *TINS.* 13,7, 272-276.

- Carpenter, M.B. (1976) Anatomical organization of the corpus striatum and related nuclei. En, Melvin, D. y Yahr, M.D. (Eds.). *The basal ganglia*. Raven Press, N.Y.

- Carpenter, M.B. (1984) Interconection between Glutamatergic and Monoaminergic system withing the basal ganglia-implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *TINS.* 13,7, 272-276.

- Cenci, M.A., Campbell, K. y Björklund, A. (1993) Neuropeptide messenger RNA expression in the 6-hydroxydopamine-lesioned rat striatum reinnervated by fetal dopaminergic transplants: Differential effects of the grafts on preproenkephalin, preprotachykinin and prodynorphin messenger RNA levels. *Neurosci.*, 57,2,275-296.

- Chang, H.T., Wilson, C.J. y Kitai, S.T. (1981) Single neostriatal efferent axons in the globus pallidus: A light and electron microscopic study. *Science*, 213: 915-918.
- Chang, H.T. y Kitai, S.T. (1982) Large neostriatal neurons in the rat: an electron microscopic study of gold-tone Golgi-stained cells. *Brain Res. Bull.* 8: 631-643.
- Chang, H.T., Wilson, C.J. y Kitai, S.T. (1982) Single neostriatal efferent axons in the globus pallidus: A light and electron microscopic study. *Science*. 213: 918-918.
- Choi, C.R., Lee, J.S., Sung, K.W. y Song, J.U. (1990) Adrenal medullary transplantation for Parkinson's disease. *Stereotactic. Funct. Neurosurg.*, 54, 55, 324-327.
- Christensson-Nylander, M., Herrera-Marschitz, M., Staines, W., Hökfelt, T., Terenius, L., Ungerstedt, U., Cuello, C., Oertel, W.H. y Goldstein, M. (1986) Striato-nigral dynorphin and substance P pathways in the rat. I. Biochemical and immunohistochemical studies. *Expl. Brain Res.* 64: 169-192.
- Chritin, M., Savasta, M., Mennicken, F., Bai, A., Abrous, D.N., Le Moal, M., Feuerstein, C. y Herman, J.P. (1992) Intraestriatal dopamine-rich implants reverse the increase of dopamine D<sub>2</sub> receptor mRNA levels caused by lesion of the nigrostriatal pathway: A quantitative *In Situ Hybridization* study. *Eur. J. Neurosc.*, 4, 663-672.
- Christie, J.E. y Crown, T.J. (1971). Turning behavior as an index of the action of amphetamines and ephedrine on central dopamine-containing neurons. *British Journal of Pharmacology.*, 43, 658-667.
- Chung, S.S., Park, Y.G., Chang, J.W. y Cho, J. (1994) Long-term follow-up results of stereotactic adrenal medullary transplantation in Parkinson's disease. *Stereotactic. Funct. Neurosurg.*, 62, 1, 4, 141-147.
- Colín-Barenque, L. (1994) Estudio morfológico del núcleo caudado del ser humano normal y con enfermedad de Parkinson: un estudio con el método de Golgi y microscopía electrónica. Tesis de Maestría, ENEP-Iztacala, UNAM.
- Collier, J.T., Redmon, D.E., Roth, R.H., Elsworth, J.D., Taylor, J.R. y Sladek, J.R. (1997) Metabolic energy capacity of dopaminergic grafts and the implanted striatum in parkinsonian nonhuman primates as visualized with cytochrome oxidase histochemistry. *Cell Transp.* 6 (2): 135-140.
- Coté, L. y Crutcher, M.D. (1991) Motor functions of the basal ganglia and diseases of transmitter metabolism. En: Kandel, E.R., Schwartz, J.H. y Jessell, T.M. (Eds.) *Principles of neural science*. Elsevier, USA.

- Creese, I., Burt, D. y Snyder, S. (1979) Nigrostriatal lesions enhance striatal  $^3\text{H}$ -spiroperidol binding. *Eur. J. Pharmacol.*, 56, 277-281.
- Cuello, A.C. (1987) Cholinergic components of the basal ganglia. En, Sandler, M., Feuerstein, C. y Scatton, B. (Eds.) *Neurotransmitter interactions in the basal ganglia*. Raven Press, N.Y.
- Davies, J. y Dray, A. (1976) Substance P in substantia nigra. *Brain Res.* 107: 623-627.
- DeBoer, P., Abercrombie, E.D., Heeringa, M. y Westerink, B.H.C. (1993) Differential effect of systemic administration of bromocriptine and L-Dopa on the release of acetylcholine from striatum of intact and 6-OHDA- treated rats. *Brain Res.*, 608: 198-203.
- DeLong, M.R. (1974) Motor functions of the basal ganglia: Single unit activity during movement. En: *Neurosciences*, 3th study program. Schmitt, F.O. y Worden, F.G. (Eds.) Cambridge; MIT Press, 319-324.
- DeLong, M.R. y Georgopoulos, A.P. (1981) Motor Functions of the basal ganglia. En, Brookhard, J., Mouncastle, V.B, Brooks, V.B. y Geiger, S.R. (Eds.) *Handbook of physiology*. American Physiological Society.
- Descarries, L., Soghomonian, J., Garcia, S., Doucet, G. y Bruno, J.P. (1992) Ultrastructural analysis of the serotonin hyperinnervation in adult rat neostriatum following neonatal dopamine denervation with 6-hydroxydopamine.
- Diamont, S.G., Markham, C.H., Rand, R.W., Becker, D.P. y Treciokas, L.J. (1994) Four-year follow-up adrenal-to-brain transplants in parkinson's disease. *Arch. Neurol.*, 51, 6, 559-563.
- DiFiglia, M., Pasik, T. y Pasik, P. (1976) A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res.* 114:245-256.
- DiFiglia, M., Aronin, N. y Martin J.B. (1982) Light and electron microscopic localization of immunoreactive Leu-enkephalin in the monkey basal ganglia. *Neurosci.* 2(3): 303-320.
- Dimova, R., Vuillet, J., y Seite, R. (1980) Study of the rat neostriatum using a combined Golgi-electron microscope technique and serial sections. *Neurosci.* 5: 1581-1596.
- Dravid, A., Jaton, A.L., Enz, A. y Frei, P. (1984) Spontaneous recovery from motor asymmetry in adult rats with 6-hydroxydopamine-induced partial lesions of the substantia nigra. *Brain Res.*, 311, 361-365.
- Diloreto, S., Florio, T., Capozzo, A. Napolitano, A., Adorno D. y Scarnati E. (1996)

- Transplantation of mesencephalic cell suspension in dopamine-denervated striatum of the rat. 1.- effects on spontaneous activity of striatal neurons. *Exp. Neurol.* 138(2): 318-326.
- Elsworth, J.D., Sladek, J.R., Taylor, J.R. Collier, T.J., Redmond, D.E. y Roth R.H.(1996) Early gestational mesencephalon grafts, but not later gestational mesencephalon, cerebellum or sham grafts, increased dopamine in caudate nucleus of MPTP-treated monkeys. *Neurosci.* 72(2): 477-484.
- Feuerstein, C., Demenge, P., Caron, P., Barrette, G., Guerin, B. y Mouchet, P. (1981) Supersensitivity time course of dopamine antagonist binding after nigrostriatal denervation: evidence for early and drastic changes in the rat corpus striatum, *Brain Res.*, 226, 221-234.
- Fiandaca, M.S., Kordower, J.H., Hansen, J.T., Jiao, S.S. y Gash, D.M. (1988) Adrenal medullary autografts into the basal ganglia of cebus monkeys: injury-induced regeneration. *Exp. Neurol.* 102, 76-91.
- Fox, C.A., Andrade, A.N., Schwyn, R.C. y Rafol, S.J.A. (1971) The aspiny neurons and the glia in the primate striatum: A Gogli and electron microscopic study. *J. Hirnforsch.* 13: 341-362.
- Freed, W.J., Perlow, M.J., Karoum, F., Seiger, A., Olson, L., Hoffer, B.J. y Wyatt, R.J. (1980). Restoration of dopaminergic function by grafting of fetal substantia nigra to the caudate nucleus: long-term behavioral, biochemical, and histochemical studies. *Ann. Neurol.*, 8, 510-519.
- Freed, W.J., Morihisa, J.M., Spoor, E., Hoffer, B., Olson, L., Seiger, A. y Wyatt, R.J. (1981). Transplanted adrenal chromaffin cells in brain reduce lesion-induced rotational behavior. *Nature (London)*, 292, 351-352.
- Freed, W.J., Ko, G.N., Niehoff, D.L., Kudar, M.J., Hoffer, B., Olson, L., Cannon-Spoor, E., Morihisa, J.M. y Wyatt, R.J. (1983). Normalization of spiroperidol binding in the denervated rat striatum by homologous graft of substantia nigra. *Science*, 222, 937-939.
- Freed, W.J., Olson, L., Ko, G.N., Morihisa, J.M., Niehoff, D.L., Strömberg, I., Kudar, M.J., Hoffer, B.J. y Wyatt, R.J. (1985). Intraventricular substantia nigra and adrenal medulla grafts: Mechanism of action and (<sup>3</sup>H) spiroperidol autoradiography. En: Björklund, A. y Stenevi, U. (Eds.) *Neural grafting in the mammalian CNS*. Elsevier, Amsterdam, 471-482.
- Freed, W.J. y Cannon-Spoor, H.E. (1989) Cortical lesions increase reinnervation of the dorsal striatum by substantia nigra grafts. *Brain Res.* 446, 133-143.
- Fuxe, K., Hökfelt, t., y Nilsson, O. (1964) Observations on the cellular localization of

dopamine in the caudate nucleus of the rat. *Z. Zellforsch.* 63: 701-706.

- Galarraga, E., Bargas, J., Martínez-fong, D. y Aceves, J. (1987) Spontaneous synaptic potentials in dopamine-denervated neostriatal neurons. *Neurosc. Letters.* 81: 351-355.

- Gerfen, C.R. (1988) Synaptic organization of the striatum. *Journal of Electron Microscopy Tech.* 10: 265-281.

-Gopinath, G. Sailaja, K. y Tandon P.N. (1996) Long-term nigral transplants in rat striatum-an electron microscopic study. *International Jour. of Devel. neurosc.* 14 (4): 435-460.

- Graham, W.C., Crossman, A.R. y Woodruff, N.G. (1990) Autoradiographic studies in animal models of hemi-parkinsonism reveal D-2 but not D-1 receptor supersensitivity. I. 6-OHDA lesion of ascending mesencephalic pathways in the rat. *Brain Res.*, 514, 92-103.

- Graybiel, A.M. (1990) a The basal ganglia and the initiation of movement. *Rev. Neurol.* 146 (10) 570-574.

- Graybiel, A.M. (1990) Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *TINS*, 13,7, 244-254.

- Gravenland, G., Williams, R.S. y DiFiglia, M. (1985) A Golgi study of the human neostriatum neurons and afferent fibers. *J. Comp. Neurol.* 234: 317-333.

- Grofova, I. (1975) The identification of striatal and pallidal neurons projecting to substantia nigra. An experimental study by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 91: 286-291.

- Guerin, B., Silice, C., Mouchet, P., Feuerstein, C. y Demenge, P. (1985) Change of the striatal <sup>3</sup>H-spiperone bindings 3-6 weeks after nigrostriatal denervation and after 2 years. *Life Sci.*, 37, 953-961.

- Hattori, T., Fibiger, H.C., McGeer, P.L. y Maler, L. (1973) Analysis of the fine structure of dopaminergic nigrostriatal projection by electron microscopic autoradiography. *Exp. Neurol.* 41:599-611.

- Hattori, S.N., McGeer, E.G. y McGeer, P.L. (1976) Synaptic morphology in the neostriatum of the rat. Possible serotonergic synapse. *Neurochem. Res.* 1: 451-467.

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

- Heikkila, R.E. y Cohen, G. (1971) Inhibition of amine uptake by hydrogen peroxide: a

mechanism for the toxic effects of 6-hydroxydopamine. *Science*, 172, 1257-1258.

- Heikkilä, R.E., Shapiro, B.S. y Duvoisin, R.C. (1981) The relationship between loss of dopamine nerve terminals, striatal <sup>3</sup>H-spiperone binding and rotational behaviour in unilaterally 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Brain Res.*, 211, 285-292.

- Herrera-Marschitz, M., Christensson-Nylander, I, Sharp, T., Staines, W., Reid, M., Hökfelt, T., Terenius, L. y Ungerstedt, U. (1986) Striato-nigral dinorphins and substance P in the rat. *Exp. Brain Res.* 64, 193-207.

- Hoffer, B.J., Leenders, K.L., Young, D., Gerhardt, G., Zerbe, G.O., Bydeman, M., Seiger, A., Olson, L., Strömberg, I. y Freedman, R. (1992) Eighteen-month course of two patients with grafts of fetal dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *Exp. Neurol.*, 118, 3, 243-252.

- Hökfelt, T., Elde, R., Johansson, O., Terenius, L. y Stein, L. (1977) Distribution of enkephalin immunoreactive cell-bodies in the rat central nervous system. *Neurosci. Lett.* 5: 25-31

- Hong, J.S., Yang, H.Y., Racagni, G. y Costa, E. (1977) Projections of substance P containing neurons from neostriatum to substantia nigra. *Brain Res.* 122(3): 541-544.

- Hornykiewicz, O. (1966) Dopamine (3-hydroxytyramine) and brain function. *Pharmacol. Rev.* 18: 925-9664.

- Hory, Y., Kageyama, H., Kihara, T., Ikeda, M., Nakao, A. y Kurosawa, A. (1993) Transient improvement of amphetamine-induced rotational behavior by PC12 cell grafts: studies with microdialysis. *Res. Neur. and Neurosc.*, 6, 49-55.

- Ingham, C.A., Hood, S.H. y Arbuthnott, G.W. (1991) A light and electron microscopical study of enkephalin-immunoreactive structures in the rat neostriatum after removal of the nigrostriatal dopaminergic pathway. *Neurosci.*, 42,3, 715-730.

- Ingham, C.A., Hood, S.H., VanMaldegen, B., Weenink, A. y Arbuthnott, G.W. (1993) Morphological changes in the rat neostriatum after unilateral 6-hydroxydopamine injections into the nigrostriatal pathway. *Exp. Brain Res.*, 93, 17-27.

- Jedrzejewska, A., Wierzba-Bobrowicz, T., Olejniczak, P., Poszwinska, Z. y Dymecki, J. (1990) Ultrastructure and immunocytochemistry of left and right nigrostriatal system after lesion of right side of substantia nigra of rat. *Adv. Neurol.*, 53, 41-49.

- Joyce, N.J. (1991) a Differential response of striatal dopamine and muscarinic cholinergic receptor subtypes to the loss of dopamine. I Effect of intranigral or intracerebroventricular

6-hydroxydopamine lesions of the mesostriatal dopamine system. *Exp. Neur.*, 113, 261-276.

- Joyce, N.J. (1991)b Differential response of striatal dopamine and muscarinic cholinergic receptor subtypes to the loss of dopamine. II Effect of 6-hydroxydopamine or colchicine microinjections in to the VTA or reserpine treatment. *Exp. Neur.*, 113, 227-290.

- Kirshner, N. (1975). Biosynthesis of catecholamines. In the adrenal gland. *Handbook of endocrinology* (Eds. H. Blazchko, G. Sayer y A.D. Smith), 6, 341-355.

- Kondower, J.H., Cochran, E., Penn, R. y Goetz C.H. (1991) Putative chomaffin cell survival and enhanced host-derived TH-fiber innervation following a functional adrenal medulla autograft for Parkinson's disease. *Ann. Neurol.*, 29, 405-412.

- Kondower, J.H., Goetz C.H., Freeman, T.B. y Olanow, C.W. (1997) Dopaminergic transplants in patients with parkinsons disease-neuroanatomical correlates of clinical recovery. *Exp. Neurol.* 144 (1): 41-46.

- Kondower, J.H., Freeman, T.B., Cheng, E.Y., Mufson, E.J., Sanberg, P.R., Hauser, R.A., Snow, B. y Olanow, C.W. (1998) Fetal nigral grafts survive and mediate clinical benefic in a patient with parkinson's disease. *Mov. Disord.*,13, 3, 383-393.

- Kubota, Y., Inagaki, S. y Kito, S. (1986) Innervation of substance P neurons by catocholaminergic terminals in the neostriatum. *Brain Res.* 375: 163-167.

-Langston, J.W.,Irwin, I. y Ricaute, G.A. (1987) Neurotoxins, parkinsonism and Parkinson's disease. *Pharm. Ther.*, 32,19-49.

- Lescuadron, L. y Stein, D.G. (1990) Functional recovery following transplants of embryonic brain tissue in rats with lesions of visual, frontal and motor cortex: problems and prospects for future research. *Neuropsychologia.*, 28, 585-599.

- Lieberman, A.N., Ransohoff, J., Berczeller, P., Brous, P., Eng, K., Goldstein, M., Kaufman, B., Koslow, M. y Chin, L. (1989) Adrenal medullary transplants as a treatment for advanced Parkinson's disease. *Acta Neurol. Scand.*, 126; 189-196.

- Lindvall, O. (1991)a Prospects of transplantation in human neurodegenerative diseases. *Trends Neurosc.*, 22, 457-468.

- Lindvall, O. (1991)b Transplants in Parkinson's diseases. *Eur. Neurol.* 31 (Supl.1), 17-27.

- Lindvall, O., Winder, H., Rehnrona, S., Brundin, P., Odin, P., Gustavii, B., Frackowiank, R., Leenders, K.L., Sawle, G., Rothwell, J.C., Björklund, A. y Marsden, C.D. (1992) Transplántation of fetal dopamine neurons in Parkinson's disease: One-year clinical and

- neurophysiological observation in two patients with putaminal implants. *Ann. Neurol.*, 31, 2. 155-165.
- Lindvall, O., Sawle, G., Winder, H., Rothwell, J.C., Björklund, A., Brooks, D., Brundin, P., Frackowiak, R., Marsden, C.D. y Odin, P. (1994) Evidence for long-term survival and function of dopaminergic grafts in progressive Parkinson's disease. *Ann. Neurol.*, 35,2, 172-180.
- Lloyd, K.G., Davidson, L. y Hornykiewicz, O. (1975) The neurochemistry of Parkinson's disease: effect of L-DOPA therapy. *J. Pharmacol.*, 195, 453-464.
- López-Lozano, J., Bravo, G. y Abascal, J. (1991) Grafting of perfused adrenal medullary tissue into the caudate nucleus of patients with Parkinson's disease. *J. Neurosurg.*, 75, 734-743
- Machado-Salas, J.P., Cornejo, A., Ibarra, O., Martínez, D.F., Huerta, G. y Kuri, J. (1990) Multidisciplinary analysis of the effectiveness of autologous neural transplant (Adrenal medulla) as treatment of Parkinson's disease. *Stereotact. Func. Neurosurg.*, 54,55, 306-311.
- Madrazo, I., Drucker-Colín, R., Díaz, V., Martínez-Mata, J., Torres, C. y Becerril, J.J. (1987) Open microsurgical autografts of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease. *N. Eng. J. Med.*, 316, 831-834.
- Mahalik, T.J., Finger, T.E., Strömberg, I. y Olson, L. (1985) Substantia nigra transplants into denervated striatum of the rat: Ultrastructure of graft and host interconnections. *J. of Comp. Neurol.*, 240, 60-70.
- Marshall, J.F., Navarrete, R. y Joyce, J.N. (1989) Decreased striatal D-1 binding density following mesotelencephalic 6-OHDA injection: an autoradiographic analysis. *Brain Res.*, 493, 247-257.
- Martone, M.E., Armstrong, D.M., Young, S.J. y Groves, P.M. (1993) Cholinergic neurons are distributed preferentially in areas rich in substance P-like immunoreactivity in the caudate nucleus of the adult cat. *Neurosci.* 56,3; 567-579.
- McGeer, P.L. y McGeer, E.G. (1975) Evidence for glutamic acid decarboxylase-containing neurons in the neostriatum. *Brain Res.* 91: 331-335.
- McGeer, P.L. y McGeer, E.G. (1993) Neurotransmitters and their receptors in the basal ganglia. En: Narabayashi, H., Nagatsu, T., Yanagisawa, N. y Mizuno, Y. (Eds.) *Advances in Neurology*. Vol. 60. Raven Press, N.Y.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

- McNeil, T.H., Brown, S.A. Rafols, J.A. y Shoulson, I. (1988) Atrophy of medium spiny striatal dendrites in advanced Parkinson disease. *Brain, Reserch.* 455,148-152.
- Mendez, I.M., Naus, C.G., Elisevich, K. y Flumerfelt B.A. (1993) Normalization of striatal proenkephalin and preprotachynin mRNA expression by fetal substantia nigra grafts. *Exp. Neurol.*, 119, 1-10.
- Moukhles, H., Nieoullon, A. y Daszuta, A. (1992) Early and widespread normalization of dopamine-neuropeptide Y interaction in the rat striatum after transplantation of fetal mesencephalon cells. *Neurosc.*, 47, 4, 781-792.
- Miller, R. y Beninger, R.J. (1991) On the interpretation of asymmetries of posture and locomotion produced with dopamine agonists in animal with unilateral depletion of striatal dopamine. *Progress in Neurobiology*, 36, 229-256.
- Nieto-Sampedro, M., Kessler, J.P., Gibbs, R. y Cotman, C.W. (1987) Effects of conditioning lesions on transplant survival. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) *Cell and tissue transplantation into the adult brain.* Ann. New York Acad. Sci. 495, 108-119.
- Nishino, H., Ono, T., Takahashi, J., Kimura, M., Shiosaka, S. y Tohyama, M. (1986) Transplants in the peri- and intraventricular region grown better than those in the central parenchyma of the caudate. *Neuroscience Letters.*, 64, 184-190.
- Nishino, H., Taketoshi, O., Shibata, R., Kawamata, S., Watanabe, H., Shiosaka, S., Tohyama, M. y Karadi, Z. (1988). Adrenal medullary cells transmute into dopaminergic neurons in dopamine-depleted rat caudate and ameliorate motor disturbances. *Brain Research*, 445, 325-337.
- Nishino, H., Hashitani, T., Kumasaki, M., Sato, H., Furuyama, F., Isobe, Y., Watari, N., Kanai, M., y Shiosaka, S. (1990). Long-term survival of grafted cells, dopamine synthesis/release, synaptic connections, and functional recovery after transplantation of fetal nigral cells in rats with unilateral 6-OHDA lesions in the nigrostriatal dopamine pathway. *Brain Res.*, 534, 83-93.
- Ohye C., Bouchard, R., Boucher, R. y Poirier, L.J. (1970) Spontaneous activity of the putamen after chronic interruption of dopaminergic pathway: effect of L-dopa. *Journal of Pharmacol. and Exp. Ther.* 175, 700-708.
- Olson, L., Stromberg, I., Herrera-Marschitz, M., Ungersted, U. y Ebendal, T. (1985) Adrenal medullary tissue grafted to the dopamine-denervated striatum: Histochemical and functional effects of addition of nerve growth factor. En: Björklund, A. y Stenevi, U (Eds.) *Nigral grafting in the mammalian CNS.* Elsevier Scientific Publishers, Amsterdam, 505-525.

- Østergaard, K. y Rasmussen, J.Z. (1991) Experimental clinical transplantation in patients with Parkinson's disease. Experimental background and clinical picture. *Ugeskr Laeger*, 153, 50, 3554-3558.
- Østergaard, K. (1993) Organotypic slice cultures of the rat striatum-I A histochemical and immunocytochemical study of acetyltransferase, glutamate decarboxylase and GABA. *Neurosci*. 53(3) 679-693.
- Paxinos, G. y Watson, C. (1986), *The rat brain in Stereotaxic Coordinates*, 2nd edn. Academic Press, New York.
- Penny, G.R., Aesharour, S. y Kitai, S.T. (1986) The glutamate decarboxylase, leucine-enkephalin, methionine-enkephalin and substance P immunoreactive neurons in the neostriatum of the rat and cat: evidence for partial population overlap. *Neuroscience* 17(4) 1011-1045.
- Perlow, M.J., Freed, W.J., Hoffer, B.J., Seiger, A., Olson, L. y Wyatt, R.J. (1979) Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Science*, 204, 643-646.
- Pezzoli, G., Fahn, S., Dwork, A., Truong, D.D., Yebenes, J.G., Jackson-Lewis, V., Herbert, J. y Cadet, J.L. (1988) Non-chomaffin tissue plus nerve growth factor reduces experimental parkinsonism in aged rats. *Brain Research*. 459, 398-403.
- Pickel, V.M., Jhonson, E., Carson, M. y Chan, J. (1992) Ultrastructure of spared dopamine terminals in caudate-putamen nuclei of adult rats neonatally treated with intranigral 6-hydroxydopamine. *Developmental Brain Res.*, 70, 75-86.
- Pickel V.M., Chan, J. y Sesack, S.R. (1992)b Cellular basis for interactions between catecholaminergic afferents and neurons containing leu-enkephalin-like immunoreactivity in rat caudate-putamen nuclei. *Journal of Neurosci Res*. 31, 212-230.
- Poirier, L.J., y Sourkes, T.L. (1965) Influence of the substantia nigra on the catecholamine content of the striatum. *Brain* 88: 181-192.
- Qin, Z.H., Chen, J.F. y Weiss, B. (1994) Lesion of mouse striatum induced by 6-hydroxydopamine differentially alter the density, rate of synthesis, and level of gene expression of D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> dopamine receptor. *J. Neuroch. Raven, Press, N.Y.*, pp 411-420.
- Radja, F., ElMasnari, M., Soghomonian, J.J., Dewar, K.M., Ferron, A., Reader, T.A. y Descarries, L. (1993) Changes of D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors in adult rat neostriatum after neonatal dopamine denervation: Quantitative data from ligand binding, in situ hybridization and iontophoresis. *Neuroscience*, 57, 3, 635-648.

- Rebec, G., Alloway, K., y Curtis, S. (1981) Apparent serotonergic modulation of the dose dependent biphasic response of neostriatal neurons produced by d-amphetamine. *Brain Res.*, 210: 277-289.
- Reiner, A. y Anderson, K.D. (1990) The patterns of neurotransmitter and neuropeptide co-occurrence among striatal projection neurons: conclusions based on recent findings. *Brain Res. Rev.* 15, 251-265.
- Rioux, L., Gaudin, D.P., Gagnon, C., Di Paolo, T. y Bédard P.J. (1991) Decrease of behavioral and biochemical denervation supersensitivity of rat striatum by nigral transplants. *Neurosci.*, 44, 1, 75-83.
- Sandler, M., Feuerstein, C. y Scatton, B. (1987) Neurotransmitter interactions in the basal ganglia. Raven Press, N.Y.
- Savasta, M., Dubois, A., Feuerstein, C., Manier, M. y Scatton, B. (1987) Denervation supersensitivity of striatal D-2 dopamine receptors is restricted to ventro- and dorso-lateral regions of the striatum. *Neurosc. Lett.*, 74, 180-186.
- Savasta, M., Dubois, A., Benavides, J. y Scatton, B. (1988) Different plasticity changes in D-1 and D-2 receptors in rat striatal subregions following impairment of dopamine transmission. *Neurosc. Lett.*, 85, 119-124.
- Sawle, G.V., Bloomfield, P.M., Björklund, A., Brooks, D.J., Brundin, P., Leenders, K.L., Lindvall, O., Marsden, C.D., Rehnström, S., Winder, H. y Frackowiak, R.S.J. (1992) Transplantation of fetal dopamine neurons in Parkinson's disease: PET (18)F 6-L-fluorodopa studies in two patients with putaminal implants. *Ann. Neurol.*, 31, 2, 166-173.
- Schmidt, R., Ingvar, M., Lindvall, O., Stenevi, U. y Björklund, A. (1982) Functional activity of substantia nigra grafts reinnervating striatum: neurotransmitter metabolism and [<sup>14</sup>C] 2-deoxy-D-glucose autoradiography. *J. Neurochem.*, 38, 737-748.
- Schmidt, R., Björklund, A., Stenevi, U., Dunnett, S.B. y Gage, F.H. (1983) Intracerebral grafting of neural cell suspension. Activity of intra-striatal nigral suspension implants as assessed by measurement of dopamine synthesis and metabolism. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 522, 19-28.
- Schultz, W. y Ungerstedt, U. (1978) Short-term increase and long-term reversion of striatal cell activity after degeneration of the nigrostriatal dopamine system. *Exp. Brain Res.* 33, 159-171.
- Segen, J. y Pappas, G.D. (1988) Pharmacologic consequences of the vascular permeability of cholinergic cell transplants in CNS pain modulatory regions. *Exp. Neurol.*, 102, 290-297.

- Sheng, J.G., Shirabe, S., Nishiyama, N. y Schwartz, J.P. (1993) Alterations in striatal glial fibrillary acid protein expression in response to 6-hydroxydopamine- induced denervation. *Exp. Brain Res.*, 95: 450-456.
- Siggins, G.R., Hoffer, B.J., Bloom, F.E. y Ungerstedt, U. (1976) Cytochemical and electrophysiological studies of dopamine in the caudate nucleus. *Research Publications: Association for Research in Nervous and Mental Disease*. 55, 227-248.
- Sivam, S.P., Breese, J.R., Krause, J.E., Napier, T.C., Mueller, R.A. y Hong, J.S. (1987) Neonatal and adult 6-hydroxydopamine-induced differentially alter tachykinin and enkephalin gene expression. *J. Neurochem.*, 49: 1623-1633.
- Smith, J.A.M., Leslie, F.M., Broide, R.S. y Loughlin, S.F. (1993) Long-term changes in striatal opioid systems after 6-hydroxydopamine lesion of rat substantia nigra. *Neurosci.*, 55(4): 935-951.
- Somogyi, P., Bolam, J.P. y Smith, A.D. (1981) Monosynaptic cortical input and local axon collaterals of identified striatonigral neurons. A light and electron microscopic study using the Golgi-Peroxidase transport degeneration procedure. *J. Comp. Neurol.* 195:567-584.
- Spenser, D.D., Robbins, R.J., Naftolin, F., Marek, K.L., Vollmer, T., Leranth, C., Roth, R.H., Price, L.H., Gjedde, A., Bunney, B.S., Sass, K.J., Elsworth, J.D., Kier, E.L., Makuch, R., Hoffer, P.B. y Redmond, D.E. (1992) Unilateral transplantation of human fetal mesencephalic tissue into the caudate nucleus of patients with Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 32, 1541-1548.
- Stoof, J.C., Drukarch, B., DeBoer, P., Westerink, B.H.C. y Groenewegen, H.J. (1992) Regulation of the activity of striatal cholinergic neurons by dopamine. *Neurosci.* 47, 755-770.
- Strömberg, I., Herrera-Marschitz, M., Hultgren, L., Ungerstedt, U. y Olson, L. (1984). Adrenal medulla in the dopamine-denervated rat striatum. I Acute catecholamine-levels in grafts and host caudate as determined by HPLC-electrochemistry and fluorescence histochemical image analysis. *Brain Research*, 297, 41-51.
- Strömberg, I. y Bickford, P. (1996) Reduced ageing effects of striatal neural discharge rate by aged ventral mesencephalic grafts. *Neuroreport*. 7(3): 693-696.
- Takashima, H., Poltorak, M., Becker, J. y Freed, W.J. (1992). Effects of adrenal medulla grafts on plasma catecholamines and rotational behavior. *Exper. Neurol.*, 118, 24-34.
- Ungerstedt, U. (1968). 6-hydroxydopamine induce degeneration of central monoaminergic neurons. *Eur. J. Pharmacol.* 5, 107-110.

- Ungerstedt, U. (1971)a. Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxy-dopamine induce degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiologica Scandinavica Suppl.*, 367, 69-93.
- Ungerstedt, U. (1971)b. Striatal dopamine release after amphetamine or nerve degeneration revealed by rotational behavior. *Acta Physiol. Scandinavica Suppl.*, 367, 93-99.
- Ungerstedt, U., Ljungberg, T., Hoffer, B. y Siggins, G. (1975) Dopaminergic supersensitivity in the striatum. *Adv. in Neurology.* 9, 57-65.
- Vernier, P., Julien, J.F., Rataboul, P., Fourrier, O., Feuerstein, C. y Mallet, I. (1988) Similar time course changes in striatal levels of glutamic acid decarboxylase and proenkephalin mRNA following dopaminergic deafferentation in the rat. *J. Neurochem.*, 51: 1375-1380.
- Voorn, P. y Buijs, R.M. (1987) Ultrastructural demonstration of dopamine in the central nervous system. En, Steinbusch, H.W.M. (Ed.) *Monoaminergic neurons: Light microscopy and ultrastructure.* John Wiley & Sons.
- Voorn, P., Roest, J. y Jroenewegen, H.J. (1987) Increase of enkephalin and decrease of substance P immunoreactivity in the dorsal and ventral striatum of the rat after midbrain 6-hydroxydopamine lesions. *Brain Res.*, 412: 391-396.
- Waddington, J.L., Cross, A.J., Longden, A., Owen, F. y Poulter, M. (1979) Apomorphine-induced rotation in the unilateral 6-OHDA-lesioned rat: relationship to changes in striatal adenylated cyclase activity and <sup>3</sup>H-spiperone binding. *Neuropharm.*, 18, 643-645.
- Walters, A.M., Clarke, D.J., Bradford, H.F. y Stern, G.M. (1992) The properties of cultured fetal human and rat brain tissue and its use as grafts for the relief of the Parkinsonian syndrome. *Neurochem. Res.*, 17, 9, 893-900.
- Waters, C. M., Peck, R., Rossor, M., Reynolds, G. P. y Hunt, S. P. (1988) Immunocytochemical studies on the basal ganglia and substantia nigra in Parkinson's disease and Huntington's chorea. *Neurosc.*, 25,2, 419-438.
- Weber, E., Evans, C.J. y Barchas, J.D. (1982) Predominance of the amino-terminal octapeptide fragment of dynorphin in rat brain regions. *Nature* 299: 77-79.
- White, L.E., Hodges, H.D., Carnes, K.M., Price, J.L. y Dubinsky, J.M. (1994) Colocalization of excitatory and inhibitory neurotransmitters markers in striatal projection neurons in the rat. *Jour. of Comp. Neurol.* 339: 328-340.

- Wilson, C.J. y Groves, P.M. (1980) Fine structure and synaptic connections of common spiny neuron of the rat neostriatum: a study employing intracellular injection of horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 194: 599-615.
- Wilson, C.J. (1990) Basal Ganglia. En, Sheperd, G. (Ed.) *The synaptic organization of the brain.* Oxford Press, N.Y. 279-316.
- Zabek, M., Mazurowski, W., Dymecki, J., Stelmachow, J. y Zawada, E. (1994) A long term follow-up of fetal dopaminergic neurons transplantation into the brain of three parkinsonian patients. *Restor. Neurol. Neurosc.*, 6, 2, 97-106.
- Zager, E.L. y Black, P. (1988). Neural transplantation. *Surg. Neurol.*, 29, 350-366.
- Zeng, B.Y., Jenner, P. y Marsden C.D. (1996) Altered motor functional and graft survival produced by basic fibroblast growth factors in rats with 6-OHDA lesions and fetal ventral mesencephalic grafts are associated with glial proliferation. *Exp. Neurol.* 139,2, 214-226.
- Zhang, W.C. (1992) Intracerebral cograf of Schwann's cell and fetal adrenal medulla in the treatment of Parkinson's disease. *Chung Hua Wai Ko Tsa Chih.*, 29, 12, 750-752.
- Zigmund, M.J., Abercrombie, E.D., Berger, T.W., Grace, A.A. y Stricker, E.M. (1990) Compensation after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications. *Trends in Neurosc.*, 17, 1211-1214.