

03081
6
207

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
UACP Y P del CCH.

EVALUACION Y MEJORAMIENTO DE LA COORDINACION
MOTORA EN RATAS VIEJAS MEDIANTE AGENTES
DOPAMINERGICOS Y TRANSPLANTES CEREBRALES.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN INVESTIGACION BIOMEDICA BASICA
P R E S E N T A

FERNANDO GARCIA HERNANDEZ.

TUTOR: Dr. René Drucker Colín.

México, D.F.

1993.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ABREVIATURAS

GPe	Globo Pálido externo.
GPI	Globo Pálido interno.
PV	Pálido Ventral.
SNC	Sustancia Nigra <i>pars compacta</i> .
SNr	Sustancia Nigra <i>pars reticulata</i> .
NPP	Núcleos del Pedúnculo Pontino.
NST	Núcleo Subtalámico.
TAL	Tálamo.
TH	Tirosina Hidroxilasa.
6-OHDA	6-Hidroxidopamina.

EVALUACION Y MEJORAMIENTO DE COORDINACION MOTORA EN RATAS VIEJAS MEDIANTE AGENTES DOPAMINERGICOS Y TRANSPLANTES CEREBRALES.

TESIS DOCTORAL: FERNANDO GARCIA HERNANDEZ.

RESUMEN

Los procesos neurodegenerativos asociados al envejecimiento se acompañan por el deterioro de las capacidades motoras en individuos y animales viejos. Aunque existen diversas pruebas diseñadas para la evaluación de las deficiencias motoras, éstas generalmente adolecen de escalas de evaluación bien definidas, que permitan establecer diferencias claras y consistentes. En esta tesis se presenta a) un nuevo método de evaluación de las deficiencias motoras en ratas viejas, así como los cambios en la coordinación ante b) la administración de agentes que incrementan la transmisión dopaminérgica y c) el trasplante de médula adrenal fetal cultivada o fresca.

El aparato de evaluación consiste de vigas de madera de 2m de longitud con 3, 6, 12, 18 y 24 mm de ancho, inclinada 15 grados, las cuales las ratas deben atravesar para alcanzar su caja hogar. El tiempo total requerido por los animales para transitar las vigas fue cronometrado hasta un límite máximo de 120 seg. También fue registrado el tiempo en que los animales permanecieron estáticos: tiempo de no movimiento. Todas las vigas fueron utilizadas en cada evaluación dispuestas en orden aleatorio. Cuarenta ratas macho de la cepa Wistar fueron utilizadas, divididas en 20 ratas jóvenes (3 meses de edad y 245 ± 48 g de peso) y 20 ratas viejas (26.5 ± 3.9 meses y 543 ± 72 g). Los resultados mostraron que el tiempo requerido por las ratas viejas para atravesar las vigas fue significativamente mayor que el ocupado por las ratas jóvenes, independientemente del ancho de la viga. Asimismo, las ratas jóvenes pudieron atravesar todas las vigas, mientras que casi ninguna rata vieja fue capaz de atravesar las vigas de 3 y 6 mm. El aumento en el ancho de las vigas permitió que las ratas viejas paulatinamente pudieran alcanzar la caja. Cuando a las ratas jóvenes se les ajustó un cinturón de plomo de 100g, éstas aún fueron capaces de atravesar todas las vigas. La administración de Haloperidol (0.1 y 0.2 mg/Kg i.p.) redujo considerablemente la capacidad motora de las ratas jóvenes, ya sea retardándolas significativamente o impidiéndoles atravesar. De manera contraria, la administración de anfetamina (1 mg/Kg i.p.) o L-dopa (50 mg/Kg) mejoró considerablemente el desempeño de las ratas viejas, reduciendo el tiempo de ejecución y aumentando el número de ratas capaces de atravesar las distintas vigas. Para los experimentos de trasplantes de médula adrenal se utilizaron 20 ratas jóvenes de la cepa Wistar con propósitos comparativos y 20 ratas viejas con edad media de 25.6 ± 0.9 meses y 574.8 ± 23.5 g de peso al inicio del experimento. El grupo A (n=5) y B (n=5) recibieron trasplantes de células cromafines fatales cultivadas por 5 días. 300 000 células fueron implantadas en la cabeza del núcleo caudado izquierdo (grupo A) y bilateralmente en ambos núcleos (grupo B). El grupo C (n=5), fue trasplantado con una médula adrenal fetal en bloque colocada en el ventrículo lateral en contacto con el caudado. El grupo D (n=5) recibió trasplante falso y fue utilizado como control. Todas las ratas fueron evaluadas antes del trasplante y cada 14 días por seis ocasiones (84 días) postrasplante, período después del cual fueron sacrificadas para su análisis histológico. Los resultados mostraron que las ratas con trasplantes bilaterales de células cromafines cultivadas y aquellas con falso trasplante no mostraron reducción de las deficiencias motoras a lo largo del período de evaluación. Las ratas con trasplante unilateral mostraron una tendencia hacia la recuperación, pero sólo en las ratas con trasplante de médula adrenal en bloque se observó una reducción estable y estadísticamente significativa de las deficiencias motoras hasta el final del período de evaluación. El análisis histológico mostró que los trasplantes de células cultivadas presentaban una pobre sobrevivencia, encontrándose pocas células cromafines. Los trasplantes en bloque mostraron una apariencia saludable con abundantes células cromafines.

Los resultados muestran que la prueba de la viga inclinada es un método confiable para destacar las deficiencias motoras en relación a la edad y que

éstas son susceptibles a las influencia dopaminérgica. También muestran que los trasplantes de médula adrenal en bloque, logran reducir las deficiencias motoras en las ratas viejas por períodos de hasta 84 días mientras que los trasplantes de células cultivadas no logran un efecto tan pronunciado.

ABSTRACT

The neurodegenerative processes associated to aging, severely affect the motor capabilities of aged humans and experimental animals. Although several tests have been designed for the evaluation of the motor deficits in experimental animals, most of them lack objective evaluating scales, making clear and consistent differences hard to establish. In this thesis we present a new motor test designed to evaluate the motor deficits of aged rats as well as the effects of dopaminergic acting drugs and brain transplants over their motor coordination. The apparatus consists of 2m wood beams 3, 6, 12, 18 and 24mm width, inclined 15 degrees, presented in a random fashion, which rats most cross in order to reach their home cage. Total time required to cross, as well as the no movement time were measured, allowing a maximum time of 120 sec. Twenty young (3 month old, weight $245 \pm 48g$) and twenty aged (26.5 ± 3.9 , weight $543 \pm 72g$) Wistar rats were used. Our results showed that the time required by aged rats to cross all beams was significantly larger than that of young rats, independently of the beam width. Wider beams allowed more aged rats to reach their home cage. When young rats were fitted with a 100g lead belt, rats were still capable to cross all beams. Haloperidol (0.1 and 0.2 mg/Kg i.p.) significantly reduced the motor capacity of young rats, slowing or even preventing them to cross. On the contrary, amphetamine (1 mg/Kg) and L-dopa (50 mg/Kg) produced a significant reduction of aged rats motor deficits, reducing both total and no movement time. For adrenal medulla transplants studies, 20 young Wistar rats were used for comparative purposes. Also 20 aged rats with 25.6 ± 0.9 months old and weighing 574.8 ± 23.5 g at the beginning of the experiments were used. Group A (n=5) and Group B (n=5) received 300 000 fetal adrenal cells cultured for 5 days into the head of the left caudate nucleus (group A) or bilaterally into both caudates (group B). Group C (n=5), was transplanted with one fresh fetal adrenal medulla placed as a block of tissue into the lateral ventricle in contact with the caudate nucleus. Group D (n=5), received sham transplants and used as control. All animals were evaluated before transplantation and every 14 days after grafting for 6 times (84 days) and then sacrificed for histological analysis. The results showed that sham and bilaterally grafted animals showed no reduction of motor deficits along the testing period. Unilaterally transplanted rats showed a tendency toward recovery, but only in the block transplanted animals a significant recovery was observed. Histological examination showed that cultured grafts had poor survival rates. Block transplants exhibited a healthy appearance with abundant chromaffin cells.

Our results show that the narrow uphill beam test is a confident test for the evaluation of motor deficits in aged rats and that it can be subjected to dopaminergic tests. They also show that fetal adrenal block transplants are capable of reducing aged rats motor disturbances for as long as 84 days, while cultured cell transplants did not show a clear effect.



Vo.Bo. Dr. René Drucker Colín.

INDICE

	PAGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	2
<i>Teoría del estrés oxidativo y los radicales libres</i>	4
<i>Papel del calcio en el envejecimiento</i>	9
LOS GANGLIOS BASALES	12
<i>Organización funcional</i>	13
<i>Funciones motoras</i>	15
<i>Es sistema dopaminérgico nigro-estriatal</i>	17
EFECTOS DEL ENVEJECIMIENTO SOBRE	
LOS GANGLIOS BASALES	21
<i>Alteraciones morfológicas</i>	21
<i>Alteraciones bioquímicas</i>	27
<i>Alteraciones electrofisiológicas</i>	32
TRANSPLANTES CEREBRALES	34
<i>Aspectos históricos</i>	34
<i>Consideraciones metodológicas</i>	35
<i>Modelos experimentales de los desórdenes motores de</i> <i>los ganglios basales</i>	40
<i>Transplantes cerebrales en los modelos experimentales</i> <i>de los desórdenes motores de los ganglios basales</i>	43
<i>Aspectos bioquímicos</i>	45
<i>Aspectos electrofisiológicos y morfológicos</i>	46
<i>Interacciones tróficas</i>	48
<i>Transplantes cerebrales al cerebro envejecido</i>	50
<i>Corolario</i>	54
HIPOTESIS	55
MATERIAL Y METODOS, RESULTADOS	56
DISCUSION	75
CONCLUSIONES	88
REFERENCIAS	90

RESUMEN

Los procesos neurodegenerativos asociados al envejecimiento se acompañan por el deterioro de las capacidades motoras en individuos y animales viejos. Aunque existen diversas pruebas diseñadas para la evaluación de las deficiencias motoras, éstas generalmente adolecen de escalas de evaluación bien definidas, que permitan establecer diferencias claras y consistentes. En esta tesis se presenta a) un nuevo método de evaluación de las deficiencias motoras en ratas viejas, así como los cambios en la coordinación motora ante b) la administración de agentes que incrementan la transmisión dopaminérgica y c) el transplante de médula adrenal fetal cultivada o fresca.

El aparato de evaluación consiste de vigas de madera de 2m de longitud con 3, 6, 12, 18 y 24 mm de ancho, inclinada 15 grados, las cuales las ratas deben atravesar para alcanzar su caja hogar. El tiempo total requerido por los animales para transitar las vigas fue cronometrado hasta un límite máximo de 120 seg. También fue registrado el tiempo en que los animales permanecieron estáticos: tiempo de no movimiento. Todas las vigas fueron utilizadas en cada evaluación dispuestas en orden aleatorio. Cuarenta ratas macho de la cepa Wistar fueron utilizadas, divididas en 20 ratas jóvenes (3 meses de edad y 245 ± 48 g de peso) y 20 ratas viejas (26.5 ± 3.9 meses y 543 ± 72 g). Los resultados mostraron que el tiempo requerido por las ratas viejas para atravesar las vigas fue significativamente mayor que el ocupado por las ratas jóvenes, independientemente del ancho de la viga. Asimismo, las ratas jóvenes

podieron atravesar todas las vigas, mientras que casi ninguna rata vieja fue capaz de atravesar las vigas de 3 y 6 mm. El aumento en el ancho de las vigas permitió que las ratas viejas paulatinamente pudieran alcanzar la caja. Cuando a las ratas jóvenes se les ajustó un cinturón de plomo de 100g, éstas aún fueron capaces de atravesar todas las vigas. La administración de Haloperidol (0.1 y 0.2 mg/Kg i.p.) redujo considerablemente la capacidad motora de las ratas jóvenes, ya sea retardándolas significativamente o impidiéndoles atravesar. De manera contraria, la administración de anfetamina (1 mg/Kg i.p.) o L-dopa (50 mg/Kg) mejoró considerablemente el desempeño de las ratas viejas, reduciendo el tiempo de ejecución y aumentando el número de ratas capaces de atravesar las distintas vigas.

Para los experimentos de transplantes de médula adrenal se utilizaron 20 ratas jóvenes de la cepa Wistar con propósitos comparativos y 20 ratas viejas con edad media de 25.6 ± 0.9 meses y 574.8 ± 23.5 g de peso al inicio del experimento. El grupo A (n=5) y B (n=5) recibieron transplantes de células cromafines fatales cultivadas por 5 días. 300 000 células fueron implantadas en la cabeza del núcleo caudado izquierdo (grupo A) y bilateralmente en ambos núcleos (grupo B). El grupo C (n=5), fue transplantado con una médula adrenal fetal en bloque colocada en el ventrículo lateral en contacto con el caudado. El grupo D (n=5) recibió transplante falso y fue utilizado como control. Todas las ratas fueron evaluadas antes del transplante y cada 14 días por seis ocasiones (84 días) postransplante, período después del cual fueron sacrificadas para su análisis

histológico. Los resultados mostraron que las ratas con trasplantes bilaterales de células cromafines cultivadas y aquellas con falso trasplante no mostraron reducción de las deficiencias motoras a lo largo del período de evaluación. Las ratas con trasplante unilateral mostraron una tendencia hacia la recuperación, pero sólo en las ratas con trasplante de médula adrenal en bloque se observó una reducción estable y estadísticamente significativa de las deficiencias motoras hasta el final del período de evaluación. El análisis histológico mostró que los trasplantes de células cultivadas presentaban una pobre sobrevivencia, encontrándose pocas células cromafines.

Los trasplantes en bloque mostraron una apariencia saludable con abundantes células cromafines.

Los resultados muestran que la prueba de la viga inclinada es un método confiable para destacar las deficiencias motoras en relación a la edad y que éstas son susceptibles a las influencia dopaminérgica. También muestran que los trasplantes de médula adrenal en bloque, logran reducir las deficiencias motoras en las ratas viejas por períodos de hasta 84 días mientras que los trasplantes de células cultivadas no logran un efecto tan pronunciado.

INTRODUCCION

Los desórdenes y padecimientos del sistema nervioso suelen tener repercusiones devastadoras sobre los individuos que las padecen afectando dramáticamente sus vidas e incapacitándolos para la realización de actividades cotidianas. Con el avance de la edad, aumentan considerablemente las manifestaciones de los desórdenes del sistema nervioso, siendo frecuente que en individuos de edad avanzada se identifique con facilidad el deterioro de sus capacidades motoras y cognoscitivas. Los afecciones del sistema nervioso asociados al envejecimiento no se manifiestan como efecto de alguna patología, sino por la degeneración natural del sistema nervioso provocada por el paso del tiempo.

De acuerdo a algunos estudios de la Organización de las Naciones Unidas, se espera que para el año 2020 se duplique el número de individuos con 65 ó más años de edad. Esta población la constituimos los individuos que actualmente contamos entre 30 a 40 años de edad, siendo que de éstos se estima que aproximadamente el 10% tendrá 85 ó más años de edad (Khachaturian, 1984). Este grupo de individuos se considera de alto riesgo médico, y dada la multiplicidad de padecimientos que presentan será necesario contar con amplios servicios médicos.

Entre los diversos padecimientos asociados a la edad, los relacionados con el mal funcionamiento del sistema nervioso requieren de tratamientos prolongados, siendo los que mayores implicaciones presentan para los servicios

de salud, por lo que su estudio es prioritario dentro de la investigación biomédica. Actualmente, el esclarecimiento de las bases anatómicas, fisiológicas y bioquímicas que subyacen a la manifestación de los padecimientos y desórdenes del sistema nervioso, ocupa una proporción considerable de la investigación en neurociencias, siendo común que dentro del diseño experimental de las investigaciones, tengan cabida alusiones y especulaciones sobre diferentes aspectos de alguna enfermedad neurológica.

La pérdida de células nerviosas ocurre durante el curso natural del envejecimiento y puede ser acelerada en padecimientos neurodegenerativos asociados a la edad como la enfermedades de Alzheimer, Parkinson, Huntington o la esclerosis lateral amiotrófica. Los desórdenes ocasionados por una degeneración prematura y acelerada de poblaciones celulares específicas del sistema nervioso, han captado la atención de un gran número de investigadores. El interés por las enfermedades neurodegenerativas antes mencionadas, se basa en que estos padecimientos son considerados efecto de un envejecimiento prematuro del sistema nervioso dada la similitud entre las alteraciones presentes en los pacientes afectados por estas enfermedades y las personas viejas sanas (Barbeau, 1973; McGeeer y cols., 1977; Appel, 1981). El esclarecimiento de los mecanismos responsables de la degeneración y muerte de las neuronas involucradas en la manifestación de dichas enfermedades, significará un importante avance en el entendimiento no solo de estas enfermedades, sino del envejecimiento del sistema nervioso.

La pérdida celular es una de las evidencias más elocuentes del envejecimiento en el sistema nervioso. Durante el transcurso de la vida de un organismo, existe muy poca pérdida celular en el tallo cerebral, exceptuando a la sustancia nigra y al locus coeruleus, mientras que en algunas estructuras telencefálicas como el hipocampo, la corteza y el núcleo basal de Meynert, existe una marcada pérdida celular y decremento en su función (McGeer y cols., 1977, 1978; Duara y cols., 1985; Finch, 1993; Shibata y cols., 1993; Dunbar y cols., 1993; Santucci y cols., 1993).

Sin embargo, es importante considerar que los efectos del envejecimiento no solo pueden manifestarse como muerte celular, sino también en niveles "sutiles" como alteraciones ultraestructurales, neuroquímicas e incluso en el desacople de señales mediadas por segundos mensajeros.

Dado que las células nerviosas diferenciadas son postmitóticas, éstas son incapaces de reemplazarse a sí mismas por lo que deben permanecer funcionalmente viables durante la vida del organismo. Por ello puede suponerse la existencia de mecanismos necesarios para el mantenimiento funcional a largo plazo de las células nerviosas; sin embargo esos mecanismos son muy poco conocidos.

Al paso del tiempo, el origen y los mecanismos que subyacen la presentación de las enfermedades neurodegenerativas en sujetos adultos y viejos son aún desconocidos y afectan a un número cada vez mayor de individuos. El estudio de los desórdenes del sistema

nervioso envejecido en animales experimentales, es en sí mismo, una herramienta sumamente poderosa en el entendimiento de las enfermedades del sistema nervioso.

ANTECEDENTES

Durante siglos el legado escrito de la humanidad ha reconocido el deterioro de diversas funciones asociado con el avance de la edad. El reconocimiento universal de este deterioro se encuentra ejemplificado en la literatura antigua en las observaciones de Virgilio "*La vejez roba todas las cosas, incluso la mente*".

A lo largo de la historia el concepto de envejecimiento ha contenido en sí mismo un fuerte componente antropocéntrico, ya que en general el término se aplica en alusión al ser humano. Esta concepción es errónea ya que la gran mayoría de los seres vivos envejecen, exceptuando a los organismos más sencillos, en los cuáles la alteración de alguna de sus estructuras vitales usualmente conlleva a la muerte (Gavrilov y Gavrilova, 1993). En este sentido, debe considerarse que las escalas temporales para medir el envejecimiento de cada especie pueden variar sustancialmente de acuerdo a la expectativa de vida de cada especie.

Las alteraciones asociadas al envejecimiento son una de las pocas propiedades universales compartidas por los seres vivos, siendo que dichas alteraciones suelen ser distintas entre las especies. Posiblemente el reino animal, es el grupo biológico donde las

alteraciones asociadas al paso del tiempo pueden ser más fácilmente reconocibles.

Desde este punto de vista "el envejecimiento" como actualmente lo conocemos es un artefacto producto del desarrollo de la civilización. Previo al desarrollo de la civilización como la conocemos, antes de que el hombre se protegiese a sí mismo y a otras especies útiles a sus intereses, los organismos viejos en un medio ambiente inalterado eran rápidamente retirados de la comunidad, ya que éstos se encontraban sujetos a las mismas presiones de selección que el resto de los de su especie y en la naturaleza hay pocas muertes naturales. Por ello, la proporción de organismos viejos es mucho menor a la de organismos jóvenes en una misma comunidad, ya que los organismos jóvenes mantienen una alta capacidad para responder a las agresiones de su entorno.

Las teorías actuales del envejecimiento, basadas en los principios de la biología evolutiva, tienen como hipótesis el que el envejecimiento ocurre por que "las presiones de la selección natural aumentan con la senectud". De esta hipótesis se desprende, que los mecanismos de mantenimiento y reparación necesarios para asegurar el éxito reproductivo en la primeras etapas de la vida, declinan cuando comienza la reproducción (Olshansky y cols., 1993).

Los estudios independientes de Carey y colaboradores (1992) y Curtsinger y colaboradores (1992), sugieren fuertemente que los organismos no están programados para morir, pero tampoco están programados para sobrevivir más allá de la edad requerida para asegurar el

éxito reproductivo, por lo que el envejecimiento no puede ser considerado parte del desarrollo.

Las respuestas inmediatas a las agresiones del medio ambiente son controladas directamente por el sistema nervioso, por lo que la adaptación exitosa de los organismos a su medio ambiente depende fuertemente de la capacidad y correcto funcionamiento del sistema nervioso. Con base en esto, la expectativa de vida de una especie animal está sujeta estrechamente a las condiciones cambiantes de su ecosistema y a la integridad del sistema nervioso.

En las comunidades humanas estos principios pierden validez ya que la humana es la única especie animal capaz de prolongar su propia expectativa de vida, gracias al mejoramiento de las metodologías médicas y a que se rodea de un medio ambiente estable. Por ello, es que el fenómeno del envejecimiento se agudiza en las comunidades humanas. El incremento de las expectativas de vida del ser humano pone de manifiesto la necesidad de estudiar y comprender los desórdenes asociados al envejecimiento.

A pesar del reconocimiento de los efectos del envejecimiento desde tiempos remotos, la biogerontología o el estudio del cómo envejecen los organismos es una disciplina joven en pleno desarrollo. Es sólo durante los últimos quince años que esta disciplina ha atraído la atención de una proporción suficiente de investigadores en biomedicina logrando que esta disciplina adquiera un carácter sustantivo. La reciente aparición de la biogerontología se ve acompañada por la falta de un sustento teórico-experimental sólido. Esto ha promovido la proliferación

de especulaciones acerca de los fundamentos teóricos en el área, desencadenando una abundancia de teorías desde los más diversos puntos de vista.

Dado que las alteraciones asociadas a la edad se manifiestan y afectan virtualmente a todos los componentes de los sistemas vivos desde el nivel molecular hasta el organismo completo, ha permitido postular teorías del envejecimiento organizadas jerárquicamente basándose en los eventos ocurridos en el transcurso del tiempo a nivel molecular, organelo, celular, tisular, orgánico o de todo el animal.

Las teorías sobre el envejecimiento biológico deben ser analizadas cuidadosamente ya que las evidencias que las sustentan pueden ser muy persuasivas, pero su apoyo experimental puede ser muy pobre. Sobre todo, se debe considerar que aquellas alteraciones consideradas comúnmente como efecto del envejecimiento pueden ser causadas por inestabilidad biológica y suelen tener multiplicidad de causas ó ser la expresión de alteraciones más básicas. Esto no excluye la posibilidad de que la causa fundamental del envejecimiento pueda recaer en la expresión diversificada de una sola alteración básica. Un hallazgo semejante podría ser considerado como la "causa fundamental", a pesar de poder producir numerosos cambios secundarios y terciarios. Seguramente con el avance del conocimiento en el área otras teorías aún por ser descritas podrán estar más cercanas a la realidad.

Diversas teorías consideran como causas principales del envejecimiento perturbaciones en: el sistema inmune, el

sistema neuroendocrino, mutaciones en células somáticas, el programa genético y la acumulación de errores y falta de reparación, estados fisiológicos selectos, generación e inactivación de radicales libres, inestabilidad de moléculas o enlaces aberrantes entre ellas, cambios de entropía, pérdida de la regulación intracelular de calcio, acumulación de lipofuscina y pérdida celular en regiones específicas. Tomadas en conjunto la mayoría de las teorías no son mutuamente excluyentes, siendo que todas o algunas pueden operar simultáneamente en el organismo y en el sistema nervioso.

A continuación se presenta una descripción de dos de las teorías del envejecimiento, que afectan directamente al sistema nervioso. Ante las evidencias clínicas y experimentales recientemente acumuladas, las teorías de los radicales libres y el calcio, alcanzan un papel particularmente relevante en el proceso de envejecimiento y degeneración del sistema nervioso.

Teoría del estrés oxidativo y los radicales libres.

Postulada por Harman (1955, 1956, 1957), ésta es una de las teorías del envejecimiento que con el paso de los años ha sido fuertemente sustentadas experimentalmente, siendo en la actualidad una de las teorías más aceptadas. La teoría postula que las reacciones de los radicales libres causan la acumulación progresiva de cambios dañinos en biomoléculas que al paso del tiempo, son responsables del incremento de las enfermedades y la muerte que acompañan al envejecimiento (Harman,

1981; 1987; 1991). Esta hipótesis se basa en la naturaleza química de las reacciones de los radicales libres y su abundancia en los seres vivos.

Los radicales libres son átomos o moléculas que poseen un electrón sin aparear que los hace sumamente reactivos, dada su tendencia termodinámica a aparear este electrón. Las reacciones de los radicales libres son irreversibles, caracterizadas por la presencia transitoria de intermediarios altamente reactivos con electrones sin aparear (para revisión consultar Halliwell y Gutteridge, 1989a).

Los radicales libres pueden originarse por a) la exposición de las células y sus organelos a radiaciones ionizantes, b) reacciones no enzimáticas y c) como subproductos del metabolismo normal por reacciones enzimáticas, particularmente en la fotosíntesis y la reducción de O_2 a agua (Chance y cols., 1979). Al reaccionar con una molécula estable los radicales libres producen otro radical libre, por lo que frecuentemente estas reacciones se presentan en cadena, en las que un sólo radical puede iniciar un proceso que al propagarse alterara múltiples moléculas estables.

Ya que este tipo de reacciones se presenta en todas las células del organismo, se postula que los daños producidos por los radicales libres sean un fenómeno generalizado observable en todos los tejidos. El incremento de las

especies derivadas del oxígeno ó radicales libres, crean una situación conocida como estrés oxidativo, el cual puede causar lesiones bioquímicas y fisiológicas que frecuentemente resultan en el desacople metabólico y la muerte celular (Scandalios, 1992). El hecho de que el oxígeno sea ubicuo en los organismos aeróbicos, ha originado el concepto de la paradoja del oxígeno, esto es, que el oxígeno es indispensable para la vida aeróbica, pero también el precursor del estrés oxidativo (Pacifici y Davies, 1991).

El proceso respiratorio de las células de los mamíferos consume O_2 necesariamente. El manejo metabólico del oxígeno es una importante fuente productora de radicales libres, ya que aproximadamente el 2% del oxígeno consumido por las mitocondrias no es reducido completamente (Boveris y Chance, 1973; Chance y cols., 1979), dando como resultado el que se produzcan radicales superóxido. Subsecuentemente por acción de la superóxido-dismutasa se produce peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno puede ser convertido a agua mediante la acción de la catalasa o bien a través de la glutathion peroxidasa. Si el peróxido de hidrógeno reacciona con otro radical superóxido, mediante la intervención de metales pesados, se produce entonces radicales más potentes como el radical hidroxilo a través de la reacción de Haber-Weiss (Figura 1).

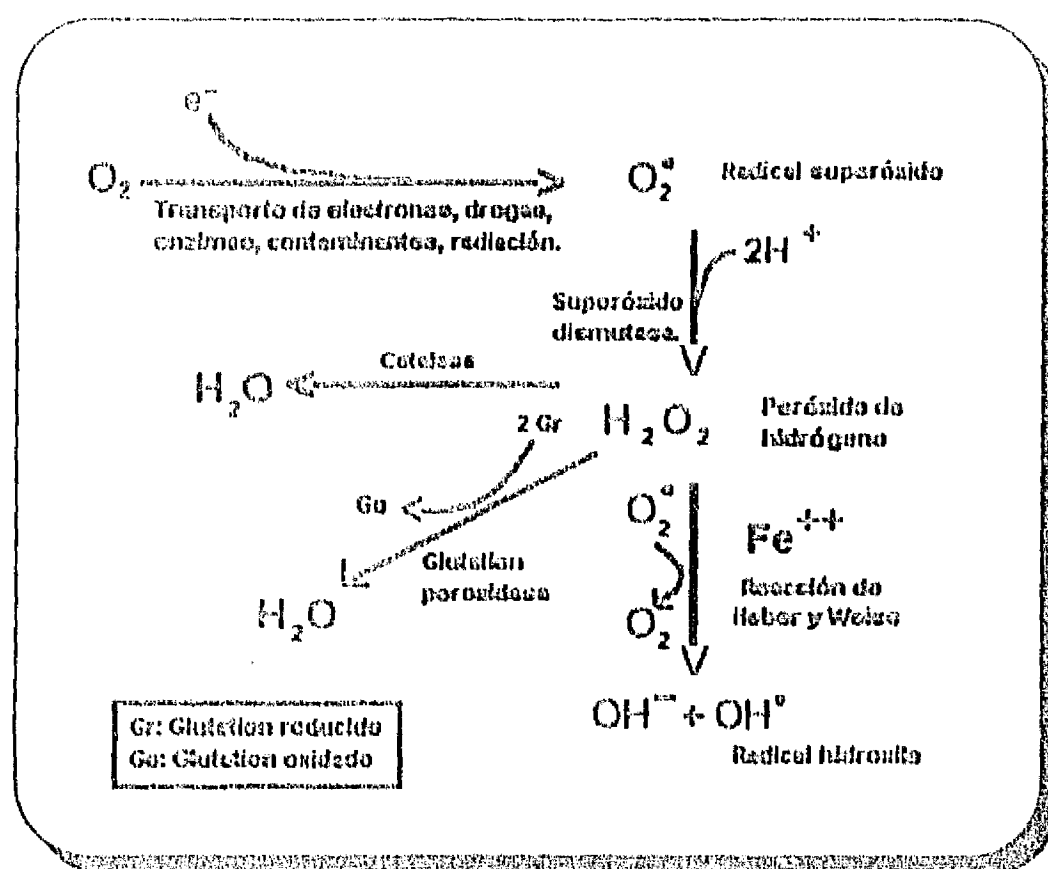


Figura 1: Reacciones de generación de radicales libres derivados del oxígeno. Ver texto.

Ha sido reportado que un pequeño incremento en los niveles de hierro intracelular, puede acelerar dramáticamente la producción de radicales libres (Minotti y Aust, 1989). Aunque el hierro es considerado como el más importante mediador en la formación de radicales libres, se debe considerar a su vez los niveles intracelulares de manganeso y cobre (Aust y cols., 1985).

El daño producido por los radicales libres puede expresarse como a) acumulación de alteraciones oxidativas en proteínas (Davies, 1987; Smith y cols., 1992), lípidos membranales (Steinberg y cols., 1989; Schwartz y cols., 1991; Lopez Torres y cols., 1992) y ADN (Ames y Shigenaga, 1992; Halliwell y Aruoma, 1992), b) acumulación de sustancias metabólicas inertes como pigmentos por reacciones de polimerización oxidativa

(Lopez Torres y cols., 1993), c) incremento en la concentración intracelular de calcio iónico y d) alteraciones del citoesqueleto (Halliwell y Aruoma, 1992).

Una de las modificaciones más importantes a la que esta teoría ha sido sujeta propone que los radicales libres y sus reacciones están involucradas en la etiología y el desarrollo de varias enfermedades crónicas que limitan la expectativa de vida de un organismo dado. Ha sido comprobado que los daños producidos por el stress oxidativo, están directamente involucrados en las alteraciones de las membranas de mitocondrias y lisosomas (Halliwell y Aruoma, 1992), en la arterioesclerosis y problemas cardiovasculares (Steinberg y cols., 1989; Schwartz y cols., 1991) y algunos procesos degenerativos asociados al

envejecimiento como cirrosis, artritis y cáncer (Halliwell y Gutteridge, 1989a), procesos isquémicos (Cao y cols., 1988; Vlessis y cols., 1990), enfisema y diabetes (Pryor, 1987).

En el sistema nervioso pueden encontrarse grandes cantidades de substratos susceptibles de ser atacados por los radicales libres, como son los lípidos insaturados y las catecolaminas. La fuerte sensibilidad del cerebro al daño oxidativo, sugiere que éste puede ser un blanco crítico del proceso de envejecimiento (LeBel y Bondy, 1992).

Ha sido propuesto que el stress oxidativo sea directamente responsable de la etiología de algunos desórdenes del sistema nervioso central como es la enfermedad de Parkinson (Cohen, 1983; Youdim y cols., 1989; Dexter y cols., 1989a,b, 1990, 1991a,b; Calne, 1992), la enfermedad de Alzheimer (Harman, 1981; Volicer y Crino, 1990), la disquinesia tardía (Lohr y cols., 1990) y el síndrome de Down (Brooksbank y Balazs, 1984).

Asimismo, existen evidencias experimentales de que los radicales libres estén involucrados en varios mecanismos de neurotoxicidad (Kontos, 1989; LeBel y Bondy, 1991a), muerte neuronal asociada a procesos isquémicos (Kitagawa y cols., 1990), cambios oxidativos en el receptor a GABA acoplado al canal de cloro, mediados por la fosfolipasa A₂, los cuales incrementan la excitabilidad celular (Schwartz y cols., 1988), y en la generación y daño celular ocasionado por actividad epiléptica (Armstead y cols., 1989; Kontos, 1989; Essman y Wollman, 1989), en algunos casos por regulación de los radicales libres sobre el receptor NMDA (Tauck y Ashbech, 1990; Levy y

cols., 1990; Pellegrini-Giampietro y cols., 1990), o bien por la inactivación de la síntesis de glutamina (Oliver y cols., 1990). Posiblemente la hiperactividad neuronal y los radicales libres podrían cooperar en la génesis del daño neuronal (Pellegrini-Giampietro y cols., 1990; LeBel y Bondy, 1992).

El estrés oxidativo es el resultado de la remoción incompleta de los productos derivados del oxígeno, por los mecanismos de defensa fisiológica (Sies, 1991). Las defensas fisiológicas contra el stress oxidativo incluye a moléculas antioxidantes y proteínas antioxidantes. Las proteínas antioxidantes pueden actuar destruyendo catalíticamente los oxidantes; como la superóxido dismutasa, catalasa, y glutathion peroxidasa, o secuestrando los metales de transición, previniendo que los iones metálicos catalicen la generación de radicales libres como la transferrina y la ceruloplasmina (Gutteridge, 1983; Aruoma y Halliwell, 1987; Halliwell y Gutteridge, 1990; Frei y cols., 1992).

Las moléculas antioxidantes actúan ya sea inactivando los oxidantes, o bien, quelando los iones metálicos de transición. Estos pueden ser divididos en antioxidantes solubles en agua como el ácido ascórbico, el glutathion, y el ácido úrico, y antioxidantes liposolubles como el -tocoferol y el -caroteno (Halliwell y Gutteridge, 1990; Stocker y Frei, 1991; Frei y cols., 1992).

En el cerebro, los niveles basales de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa y glutathion peroxidasa son bajos (Savolainen, 1978), y la mayor parte de su protección antioxidante se encuentra en los capilares sanguíneos y

células gliales (Tayarani y cols., 1987), presumiblemente para impedir la difusión de agentes oxidantes hacia las neuronas, ya que los microvasos cerebrales son un sitio de alta actividad de peroxidación de lípidos (Hall y Braugher, 1989) y actividad oxidativa (Gherzi-Egea y cols., 1988). Asimismo, los niveles de ferritina, en el sistema nervioso son sumamente bajos (Halliwell, 1989a,b), y el decremento en la concentración de esta molécula en el cerebro, ha sido relacionado con la baja actividad antioxidativa observada en la enfermedad de Parkinson (Dexter y cols., 1990, 1991a,b).

Comparativamente, el tallo cerebral contiene una concentración menor de glutathione que el resto del cerebro, además de una alta actividad deoxidativa, por lo que ha sido propuesto que esta combinación puede hacer a esta región especialmente vulnerable al daño oxidativo, especialmente ocasionando la muerte de las células nigrales en la enfermedad de Parkinson (Perry y cols., 1982; Ravindranath y cols., 1989).

Los reportes acerca de los efectos del envejecimiento sobre el potencial oxidativo cerebral son contradictorios (Sawada y Carlson, 1987; Devasagayam, 1989; Cand y Verdeti, 1989; LeBel y Bondy, 1991b). De la misma forma, los reportes sobre los cambios en las defensas antioxidantes en el sistema nervioso central envejecido son conflictivos, tanto para las actividades de la superóxido dismutasa, catalasa, glutathione peroxidasa y citocromo oxidasa (Vitorica y cols., 1984; Scapa y cols., 1987; Cand y Verdeti, 1989; Vanella y cols., 1989; Barja de Quiroga y cols., 1990; Semsei y cols., 1991; LeBel y Bondy, 1991b), como en el sistema del

glutathione (Benzi y cols., 1989; Devasagayam, 1989; Barja de Quiroga y cols., 1990).

Sin embargo, parece claro que con el avance de la edad, existe un aumento del contenido de hierro en el cerebro de ratas viejas (Floyd y cols., 1984), y de humanos afectados por la enfermedad de Parkinson (Dexter y cols., 1989a). La acumulación de lipofuscina asociada al envejecimiento en tejidos postmitóticos es ampliamente aceptada (para revisión ver Porta, 1991), y aunque los mecanismos de formación de este pigmento no son claros, las evidencias apuntan hacia una deficiencia del sistema protector antioxidante (Sokol, 1989; Lopez Torres y cols., 1993). Otro aspecto claro de las alteraciones asociadas al envejecimiento, son las modificaciones en el recambio de proteínas celulares, mediante la intervención de reacciones oxidativas (Ragusa y cols., 1989; LeBel y Bondy, 1991b; Carney y cols., 1991).

Los radicales libres están involucrados en múltiples procesos funcionales que incluyen efectos celulares deletereos, fagocitosis e incluso como segundos mensajeros como es el caso del óxido nítrico, sin embargo su participación específica en el proceso de envejecimiento es aún poco clara.

La utilización de sustancias capaces de regular y disminuir la acción de las reacciones mediadas por radicales libres logran aumentar las expectativas de vida de los organismos, pero no logran extender el período de vida máxima de la especie, por lo que se cuestiona la veracidad de la teoría en estas bases. Aparentemente el uso de enzimas y moléculas inactivantes de radicales libres

podrían ser el principio de una vida más saludable, pero estas en sí no son capaces de alterar la cronología del envejecimiento (Hayflick, 1985).

Papel del calcio en el envejecimiento.

El calcio juega un papel funcional extremadamente amplio y complejo en el organismo, estando involucrado en la regulación de la excitabilidad celular, transducción en la comunicación celular y en diversos procesos metabólicos. El sistema nervioso es particularmente vulnerable a las alteraciones homeostáticas del calcio ya que el funcionamiento del sistema nervioso es altamente dependiente de diversos procesos regulados mediante este catión divalente.

Desde principios de siglo Novi (1912), documentó cambios en el contenido de calcio cerebral asociados a la edad, mas estos resultados no fueron considerados particularmente relevantes. Sin embargo, a la luz de las nuevas evidencias acumuladas sobre la preponderante participación del calcio en diversos procesos fisiológicos y principalmente neuronales, han llevado a reevaluar su participación durante el envejecimiento y en los desórdenes asociados a éste.

La identificación de las alteraciones en la homeostasis de calcio es extremadamente difícil, dada su compleja regulación y compartimentalización celular. Sin embargo, se han logrado establecer diversas alteraciones relacionadas con el envejecimiento en la regulación y homeostasis del calcio, siendo la alteración más importante un

notable decremento de la permeabilidad del calcio a través de la membrana de diversos tipos celulares, principalmente neuronas (Peterson y Gibson, 1983a; Peterson y cols., 1985a; 1985b; 1986; Gibson y Peterson, 1987). El decremento de los movimientos de calcio a través de la membrana celular, y la disminución de calcio intracelular (Grossman y cols., 1983) pueden inducir la formación (Selkoe y cols., 1982a,b;) y fosforilación (Sternberger y cols., 1985) de proteínas anormales en la enfermedad de Alzheimer.

En sinaptosomas obtenidos de la corteza cerebral de ratas de 18 y 24 meses de edad, se ha demostrado un decremento en la recaptura de calcio voltaje-dependiente, así como la recaptura de calcio mitocondrial ATP-dependiente y estimulado por glutamato-ADP, al compararse con sinaptosomas de ratas de 3 meses de edad (Leslie y cols., 1985). El decremento en la recaptura de calcio en sinaptosomas y mitocondrias no parece depender de cambios en la fluidez de las membranas, sino a una reducción de la actividad del transportador de calcio y a un incremento en los fosfatos inorgánicos mitocondriales.

Estos resultados sugieren que no sólo la liberación dependiente de calcio de neurotransmisores vesiculados se ve alterada, sino también los procesos ATP-dependientes y respiratorios regulados por calcio. Este decremento podría estar ligado a los decrementos de hasta el 60% en la actividad de la calmodulina observados en la corteza cerebral, estriado y cerebelo de ratas de 22 meses de edad (Teolato y cols., 1983).

Recientemente se reportó que en neuronas disociadas de ratones viejos, la concentración basal de calcio intracelular se encuentra significativamente reducida y que el incremento en la concentración de calcio intracelular inducida por la depolarización por potasio es sustancialmente menor a la observada en neuronas jóvenes. Los autores atribuyen estas alteraciones a un posible incremento de los mecanismos Ca-dependientes que terminan con el influjo de calcio. Contrariamente, la acumulación de inositoltrifosfato inducida por la depolarización es sustancialmente mayor en las neuronas viejas. Ambos resultados sugieren que los procesos mediados por el calcio intracelular son más sensibles al calcio, en los animales viejos, para compensar el decremento en la disponibilidad de calcio (Hartmann y cols., 1993). Más aún, el decremento en la concentración de calcio intracelular podría estar determinada por una significativa reducción en el número de canales de calcio del tipo L en regiones como la corteza, tálamo, hipotálamo y cerebelo (Araki y cols., 1993). La aplicación de nimodipina, antagonista de éstos canales, disminuye significativamente las alteraciones electrofisiológicas asociadas a la edad, observadas en las neuronas piramidales del hipocampo (Moyer y cols., 1992), aunque las alteraciones de dichas neuronas pueden variar de acuerdo a la cepas de rata en estudio (Potier y cols., 1993).

La disminución del calcio intracelular, puede decrementar la proteólisis (Ochs y cols., 1977) y el transporte axónico incluso de vesículas sinápticas (Zeman y cols., 1986), por lo que las reducciones del calcio intracelular y del flujo de éste a través de la membrana, pueden terminar

con la acumulación de proteínas anormales en los cuerpos neuronales, las cuales incluso pueden unir calcio (Ando y cols., 1986) reduciendo aún más la disponibilidad de calcio intracelular.

Las alteraciones homeostáticas del calcio asociadas a la edad son fisiológicamente importantes, ya que los tratamientos farmacológicos que incrementan la entrada de calcio a las terminaciones nerviosas pueden revertir parcialmente algunas de las deficiencias observadas, mediante el incremento de la liberación de neurotransmisores (Thesleff, 1981; Glover, 1982; Peterson y Gibson, 1983b).

La hipótesis contraria, esto es: las deficiencias que acompañan al envejecimiento son resultado del aumento de las concentraciones de calcio intracelular, también ha sido propuesta. La presencia de altas concentraciones de calcio en el interior celular pueden causar una inhibición dramática de la fosforilación, desacople de la cadena de transporte de electrones en la mitocondria y la activación de fosfolipasas y proteasas, lo cual en última instancia redundaría en la muerte celular (Fujita, 1986, 1988; Young, 1987).

Por estas razones la pérdida de la homeostasis normal del calcio intracelular, ha sido postulada como el eslabón final en una cadena de eventos que culmina con la muerte celular en varios tipos celulares incluyendo las neuronas (Schanne, y cols., 1979). La pérdida de la regulación de calcio, resultante en un incremento de la concentración de calcio intracelular, ha sido observada en casos de degeneración y muerte celular en respuesta a la anoxia

y la isquemia (Trump y Berezsky, 1983; Choi, 1990) y por efecto del envejecimiento y en la enfermedad de Alzheimer (Sang y cols., 1993), aunque existen reportes opuestos al respecto (Grossmann y cols., 1993).

Mecanismos contrarios parecen actuar sobre las neuronas en desarrollo, en donde el aumento de la concentración intracelular de calcio, incrementa la sobrevivencia y disminuye la dependencia de estas células a los factores tróficos (para revisión ver Johnson y Deckwerth, 1993).

El aumento del contenido de calcio intracelular se correlaciona con la muerte celular inducida por la sobrestimulación del sistema glutamatérgico. La sobrestimulación del receptor a glutamato, ocasiona el aumento de las concentraciones intracelulares de calcio, sodio, cloro, agua, inositoltrifosfato, diacilglicerol y la depleción del potasio intracelular (Choi, 1990). Estas alteraciones son por sí mismas potencialmente letales, o bien pueden desencadenar otros eventos irreversibles que culminan con la muerte celular.

Evidencias diversas sugieren que la acción nociva del incremento de calcio intracelular está estrechamente relacionada con el estrés oxidativo. La neurotoxicidad inducida por glutamato puede ser mediada por el influjo de calcio extracelular y la formación de radicales libres (Choi, 1988), lo que podría explicar la postulada participación del calcio y los radicales libres en la neuropatogénesis producida por hipoxia e isquemia (Meldrum y cols., 1985; Siesjo, 1989; Siesjo y Bengtsson, 1989). Incluso, los cambios patológicos consecuentes al

restablecimiento normal de sangre posterior al proceso isquémico, podrían estar relacionados con la elevación excesiva del calcio libre intracelular (Siesjo, 1988) y esto podría causar la producción excesiva de radicales libres (Dykens y cols., 1987; Oleson, 1986; Murphy y cols., 1989; Vlessis y cols., 1990).

El incremento en los niveles intracelulares de calcio libre, ocasionados por la ruptura del gradiente de concentración de calcio a través de la membrana, o por la liberación de grandes cantidades del ion desde pozas intracelulares, pueden activar las fosfolipasas y así estimular la producción de radicales libres (LeBel y Bondy, 1992).

También asociado al envejecimiento se ha reportado un decremento significativo en la densidad de los receptores D_1 y D_2 en distintas regiones del cuerpo estriado, siendo particularmente afectado el receptor D_1 . La aplicación crónica de cinnarizina, un antagonista orgánico de los canales de calcio, aumenta la densidad de ambos receptores afectando particularmente al D_1 , indicando que la interacción entre los subtipos de receptores dopaminérgicos, puede ser necesaria para la expresión conductual completa de los eventos mediados por el receptor D_2 (Camps y cols., 1993).

En su conjunto los procesos involucrados en las dos teorías descritas y el resto de las teorías del envejecimiento mencionadas no son mutuamente excluyentes. Todos o algunos de estos procesos pueden operar simultáneamente en el sistema nervioso, aunque su acción se manifieste en todos los tejidos del organismo. La pérdida de la

homeostasis de los radicales libres y del calcio son considerados el último eslabón en una cadena de eventos que culminan con la muerte celular. Más aún, los efectos citotóxicos que ejercen estas moléculas son por sí mismos, suficientes para provocar la muerte celular sin participar encadenados a otros procesos.

LOS GANGLIOS BASALES

En el estudio del sistema nervioso, los ganglios basales han captado la atención de múltiples investigadores, traduciéndose en una generosa producción de información que abarca los más diversos puntos de vista. Sin embargo, los ganglios basales son sin duda una de las estructuras más complejas y menos comprendidas del sistema nervioso junto con la corteza cerebral, con la que comparten una estrecha asociación anatómica y funcional. Los ganglios basales son un conjunto de núcleos cerebrales estrechamente interconectados, localizados en el cerebro anterior de reptiles, aves y mamíferos.

Aunque existen algunas discrepancias en cuanto a las estructuras que conforman los ganglios basales, es generalmente aceptado que éstos están conformados por el núcleo caudado, el putamen, el globo pálido, la sustancia nigra y el núcleo subtalámico. Frecuentemente el putamen y el globo pálido son denominados como núcleo lenticular; mientras que el núcleo caudado y el putamen son comúnmente llamados cuerpo estriado, dadas sus similitudes citoarquitectónicas. Algunos autores (ver Heimer y cols., 1985; Wilson, 1990) consideran que dentro de los ganglios basales se debe incluir a la amígdala y al

claustrum, de acuerdo con las conexiones existentes y estrecha relación entre estas estructuras y el resto de los ganglios basales.

En gran parte de los vertebrados, incluyendo la mayoría de los mamíferos, los ganglios basales constituyen las estructuras subcorticales telencefálicas más prominentes. Su tamaño y estrechas similitudes estructurales en gran variedad de vertebrados terrestres, sugieren que evolutivamente los ganglios basales son una parte fundamental en la organización cerebral. A pesar de los múltiples esfuerzos a lo largo de décadas de investigación, el papel funcional de este conjunto de estructuras está aún por ser completamente esclarecido.

Las evidencias más aceptadas sobre el papel funcional de los ganglios basales provienen de observaciones en personas con alteraciones que afectan a estas estructuras. En todos los casos, estas enfermedades producen severos trastornos del movimiento, caracterizándose por ser muy complejos y multifactoriales. En algunos trastornos, como la enfermedad de Parkinson, los movimientos son más difíciles de realizar, mientras que en otros, como la enfermedad de Huntington, movimientos innecesarios y sin propósito interfieren con la ejecución de acciones propositivas del paciente.

Estas observaciones clínicas guiaron a muchos investigadores a pensar en los ganglios basales como componentes de un sistema disperso involucrado de alguna forma en los aspectos sutiles y complejos de la generación de movimientos voluntarios. Las evidencias actuales indican que los ganglios basales no sólo están implicados en los aspectos

sensorimotora del movimiento sino también en la planeación de movimientos, selección de programas ejecutorios, memoria motora, algunas formas de adicción a drogas y desórdenes mentales mayores como la esquizofrenia y desórdenes obsesivo-compulsivos (ver Goldman-Rakic y Selemon, 1990).

Inicialmente, se consideró que la función de los ganglios basales estaba fuertemente influenciada por su morfología en cuanto a la reducción progresiva en el tamaño de las estructuras involucradas en el procesamiento de información, y el aparente efecto de embudo a la largo de las vías que van desde la corteza cerebral a través de los ganglios basales, hasta el tálamo y finalmente retornan a la corteza (Kemp y Powel, 1970; Allen y Tsuhara, 1974). Con base en estas características anatómicas de gran escala, prevaleció la idea de que la función esencial de los ganglios basales era integrar la información que converge desde las áreas corticales de asociación y sensorimotoras durante su tránsito hacia las zonas blanco en el tálamo.

Asimismo, existían evidencias de que la influencia de la corteza asociativa y sensorimotora se mantienen independientes en su tránsito a través de los ganglios basales hacia el tálamo, además de que sus proyecciones no sólo inervan la corteza motora primaria sino todo el lóbulo frontal (Alexander y Crutcher, 1990).

Organización funcional.

Los conceptos acerca de la organización de los ganglios basales han cambiado sustancialmente, gracias a los avances realizados sobre la anatomía, fisiología y farmacología de las estructuras que los conforman. Las evidencias sobre cada una de estas áreas sustentan la noción de que los ganglios basales están funcionalmente organizados en circuitos paralelos estructural y funcionalmente independientes, uniendo la corteza cerebral, los ganglios basales y el tálamo.

Las evidencias recopiladas sugieren la existencia de al menos cinco circuitos ganglios basales-tálamo-corticales, organizados en paralelo pero independientes uno de otro tanto estructural como funcionalmente (Alexander y cols., 1986). Cada uno de estos circuitos interconecta regiones separadas aunque contiguas de los ganglios basales y el tálamo, siendo que las proyecciones de cada circuito se localiza en áreas distintas del lóbulo frontal. Las proyecciones de los ganglios basales y tálamo al lóbulo frontal están organizadas de la siguiente forma:

- Circuito "esqueleto-motor": el cual proyecta a la corteza motora primaria (área motora suplementaria y corteza premotora).
- Circuito "oculomotor": el cual proyecta hacia los campos visuales frontales y suplementarios,

- Circuito "dorsolateral prefrontal" a la corteza prefrontal dorsolateral.
- Circuito "orbitofrontal lateral" a la corteza orbitofrontal lateral.
- Circuito "límbico" hacia la corteza anterior del cíngulo y orbitofrontal medial.

De acuerdo con este enfoque, la disposición en paralelo de los circuitos de los ganglios basales-tálamo-corticales participan de manera concurrente en varias funciones separadas que incluyen procesos motores, oculomotores, cognoscitivos y límbicos (Alexander y Crutcher, 1990).

En todos los circuitos de los ganglios basales-tálamo-corticales, existen zonas específicas de la corteza cerebral sensorial, motora y asociativa, que envían proyecciones excitatorias glutamatérgicas (Spencer, 1976; Divac, 1977) a áreas específicas del cuerpo estriado, considerado como la estructura de entrada a los ganglios basales (DeLong y Georgopoulos, 1981; Nauta, 1979).

Ha sido postulado que los núcleos de salida de los ganglios basales: el segmento interno del globo pálido (GPi), la sustancia nigra *pars reticulata* (SNr), y el pálido ventral (PV), ejercen mediante descargas espontáneas de alta frecuencia

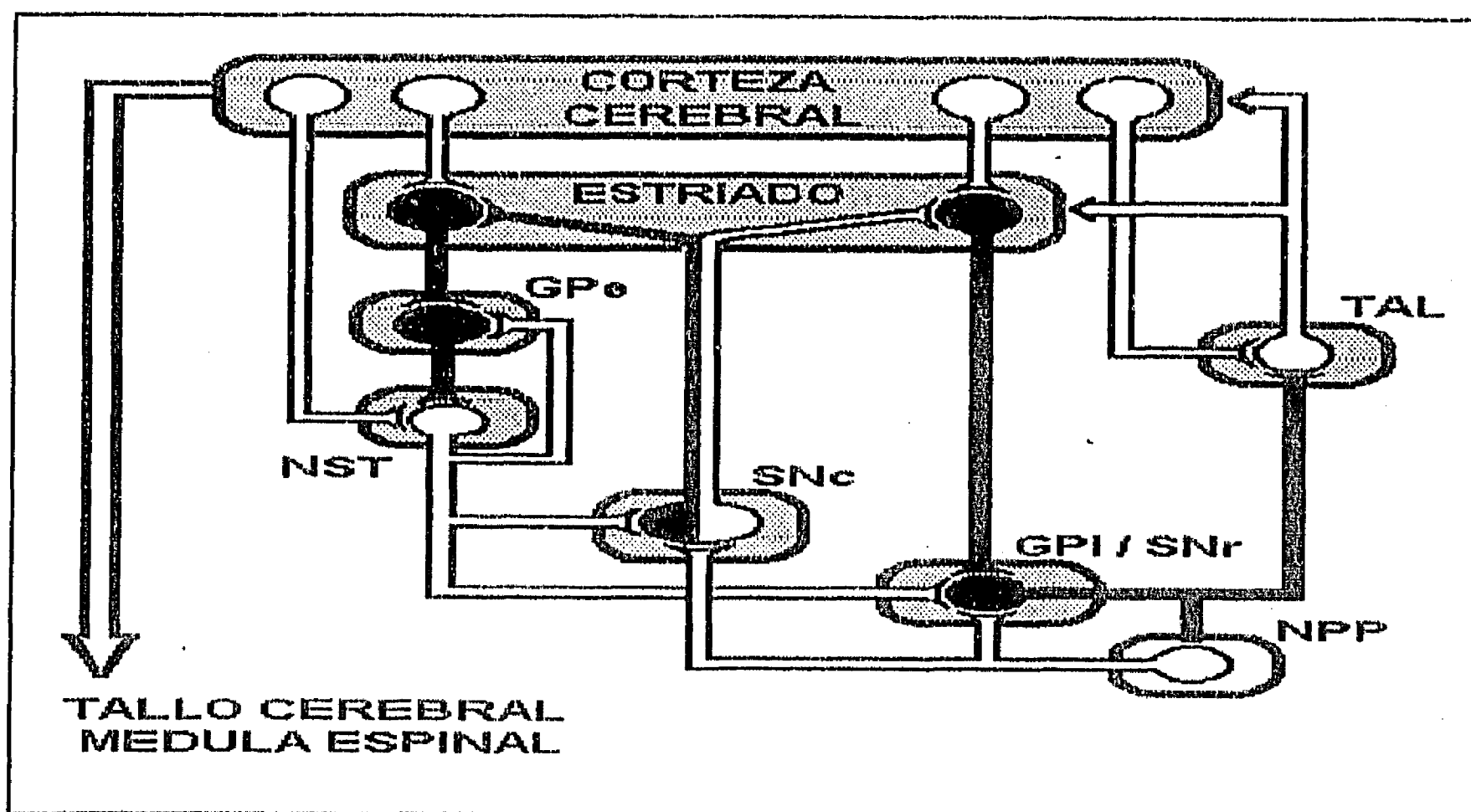


Figura 2: Diagrama esquemático de los circuitos córtico-ganglios basales-tálamo-corticales, mostrando las vías paralelas directa e indirecta desde el estriado hacia los núcleos de salida. Las neuronas gabaérgicas inhibitorias se muestra en negro, mientras que las glutamatérgicas excitatorias en blanco. Las

neuronas dopaminérgicas se representan combinadas. Abreviaturas: GPe: globo pálido externo, NST: núcleo subtalámico, SNc: sustancia nigra compacta, GPi: globo pálido interno, SNr: sustancia nigra reticulada, NPP: núcleos del pedúnculo pontino, TAL: tálamo. Modificada de Alexander y Crutcher, 1990.

una inhibición tónica mediada por GABA en los núcleos blanco en el tálamo (Penney y Young, 1981; Deniau y Chevalier, 1985).

En cada circuito las salidas inhibitorias están moduladas diferencialmente por una vía directa y otra indirecta con acciones fisiológicas opuestas pero morfológicamente paralelas, que van desde el estriado a los núcleos de salida de los ganglios basales. Cada circuito cuenta con una vía directa a los núcleos de salida SNr y GPi que se originan de las eferentes estriatales inhibitorias que contienen GABA y sustancia P (Albin y cols., 1989). La activación de esta vía directa tiende a desinhibir el componente talámico del circuito (Deniau y Chevalier, 1985).

Igualmente, cada circuito incluye una vía indirecta en la cual las eferentes estriatales que contienen GABA y encefalina proyectan primeramente al segmento externo del globo pálido (GPe) (Graybiel y Ragsdale, 1983), desde donde las eferentes GABAérgicas proyectan al núcleo subtalámico y finalmente a los núcleos de salida mediante proyecciones excitatorias posiblemente glutamatérgicas (Nakanishi y cols., 1987; Smith y Parent, 1988). La activación de las proyecciones inhibitorias estriatales de este circuito, suprimen la inhibición tónica de las neurona del GPe sobre el núcleo subtalámico, incrementando la excitación sobre los núcleos de salida por lo que se incrementa la inhibición de los núcleos talámicos. Las dos vías estriatales, directa e indirecta tienen efectos opuestos sobre los núcleos de salida de los ganglios basales y consecuentemente sobre los blancos en el tálamo.

Funciones motoras.

En los primates, la entrada al circuito motor de los ganglios basales se concentra en el putamen principalmente. Esta porción del estriado recibe proyecciones topográficamente organizadas de la corteza motora primaria, área premotora del arcuato y área suplementaria motora, así como de la corteza somatosensorial (Kunzle, 1975, 1978; Jones y cols., 1977; Selemon y Goldman-Rakic, 1985), cuyas células pueden activarse anticipadamente hasta 2.6 seg. antes de iniciar el movimiento del brazo (Romo y Schultz, 1987).

Las proyecciones corticales están organizadas somatotópicamente en representaciones que se extienden a lo largo del eje rostrocaudal del putamen. Las proyecciones se dividen en una zona dorsolateral en la que se representa la pierna, una zona ventromedial en que se representa la región orofacial y una zona entre estas dos en la que se representa el brazo (Kunzle, 1975; Crutcher y DeLong, 1984; Alexander y DeLong, 1985). Nuevas evidencias sugieren que en el circuito motor estas tres vías de entrada al putamen pueden tener campos terminales de proyección contiguos pero no sobrepuestos (Alexander y Crutcher, 1990).

El putamen proyecta a su vez topográficamente a porciones específicas del GPe, GPi y la SNr (Szabo, 1967; Johnson y Rosvold, 1971; Parent y cols., 1984), mientras que por su parte las zonas motoras del GPi y SNr envían proyecciones topográficamente organizadas a núcleos talámicos específicos como el núcleo ventral lateral *pars oralis*, núcleo ventral anterior *pars*

parvocellularis y *pars magnocellularis* y el núcleo centro mediano (Kuo y Carpenter, 1973; Carpenter y cols., 1976; Kim y cols., 1976; Llinsky y cols., 1985).

El circuito motor es cerrado por las proyecciones tálamo-corticales desde 1) los núcleos ventral lateral *pars oralis*, y ventral anterior *pars magnocellularis* al área suplementaria motora (Strick, 1976; Kievit y Kuypers, 1977; Schell y Strick, 1984), 2) los núcleos ventral anterior *pars parvocellularis* y ventral lateral *pars oralis* a la corteza premotora, exclusivamente al área premotora del arcuato (Schell y Strick, 1984; Matelli y cols., 1989), y 3) el núcleo ventral lateral *pars oralis* y núcleo centro mediano a la corteza motora primaria (Strick, 1976; Kievit y Kuypers, 1977; Matelli y cols., 1989).

Recientemente Hoover y Strick (1993), describieron mediante trazadores retrógrados transinápticos, que la representación del brazo en la corteza motora primaria, el área suplementaria motora y el área premotora ventral, tienen tres sitios de proyección distintos y bien delimitados en el pálido interno. Estas tres proyecciones, transitan por el tálamo a través del núcleo ventral lateral *pars oralis*, por lo que los autores proponen que dentro del circuito esqueleto-motor, existan por lo menos tres circuitos paralelos e independientes que procesan la información del mismo miembro, en este caso el brazo. Estos resultados evidencian que las proyecciones palidales pueden influenciar varias (al menos tres) regiones motoras corticales y no solamente una en particular.

La funcionalidad de las neuronas dentro del circuito motor ha sido demostrada en varios modelos experimentales. En las

etapas corticales, estriatales y palidales del circuito, la actividad de una proporción sustancial de neuronas ligadas al movimiento depende de la dirección del movimiento del miembro independientemente del patrón de actividad muscular asociado.

En el área suplementaria motora, corteza motora, putamen, globo pálido, estas neuronas componen el 30 a 50% de las neuronas relacionadas con el movimiento, las cuales muestran características y propiedades claramente somatotópicas (Mitchell y cols., 1987; Crutcher y DeLong, 1984). Asimismo, se ha reportado que los movimientos rápidos de los miembros, iniciados por un estímulo se originan en su mayoría en las áreas corticales más que en áreas subcorticales del circuito motor (Thach, 1978; Tanji y Kurata, 1982; Anderson y Horak, 1985; Crutcher y DeLong, 1984).

Estas evidencias sugieren algún grado de procesamiento en serie dentro de los circuitos ganglios basales- tálamo-corticales, donde la mayoría de la actividad en los circuitos se inicie en niveles corticales (Alexander y Crutcher, 1990).

Ha sido reportado que el circuito motor está involucrado no sólo en ejecución de movimientos sino también en su preparación. Estudios en primates han mostrado que la corteza premotora, el área suplementaria motora y la corteza motora contienen neuronas que modifican dramáticamente su patrón de descarga espontánea ante la presentación de estímulos que instruyen al animal sobre la dirección del movimiento a realizar, perdurando hasta la presentación del estímulo ejecutorio (Thach, 1978; Tanji y

cols., 1980; Weinrich y Wise, 1982; Wise y Mauritz, 1983; Tanji y Kurata, 1985).

Dada la existencia de neuronas con propiedades preparatorias al movimiento y neuronas ejecutorias del movimiento más que la combinación de ambas propiedades en una sola neurona, sugiere que los aspectos preparatorios y ejecutorios del control del movimiento pueden estar separados en subcanales en cada uno de los canales somatotópicos del circuito motor (Alexander y cols., 1986, 1987) como los reportados por Hoover y Strick (1993).

Durante la ejecución de movimientos específicos, las neuronas relacionadas con el movimiento en la SNr y GPi pueden mostrar tanto un decremento como un incremento fásico en su patrón de descarga espontánea (Georgopoulos y cols., 1984; Anderson y Horak, 1985; Mitchell y cols., 1987). Diversas evidencias indican que el decremento fásico del patrón de descarga juega un papel crucial en el control motor al desinhibir al tálamo ventrolateral y de esta manera abrir o facilitar los movimientos iniciados en la corteza a través de las conexiones excitatorias tálamocorticales.

Los incrementos fásicos en el patrón de descarga podrían tener efectos opuestos cerrando los impulsos de movimientos iniciados en la corteza (Klockgether y cols., 1985; Albin y cols., 1989). Sin embargo se desconoce si la vía directa puede interactuar con la vía indirecta a nivel de las neuronas del GPi y SNr, controlando la salida de información de los ganglios basales.

El sistema dopaminérgico nigro-estriatal.

El sistema nigro-estriatal ha sido utilizado por muchos años para el estudio de las funciones de la dopamina en el cerebro de los mamíferos. El papel de la inervación dopaminérgica desde la sustancia nigra *pars compacta* (SNc) al estriado es muy complejo y aún no es enteramente comprendido. Una característica interesante de las neuronas dopaminérgicas de la SNc es que cada una da lugar a aproximadamente 250 000 terminales en el estriado (Anden y cols., 1966; Bjorklund y Lindvall, 1984), lo cual sugiere que una sola neurona dopaminérgica puede tener una extensiva influencia postsináptica sobre las neuronas estriatales.

La arborización terminal de las neuronas dopaminérgicas parece tener contactos dispersos con las neuronas del estriado ya que la lesión incompleta de la SNc produce una inconspicua y homogénea reducción de dopamina y degeneración de terminaciones a lo largo de grandes porciones del estriado de la rata (Shimizu y Ohnishi, 1973), gato (Moore y cols., 1971) y primates (Carpenter y McMasters, 1964).

El impacto que la inervación dopaminérgica tiene sobre la actividad estriatal queda manifiesto cuando se examinan las propiedades compensatorias del sistema. Cuando por efecto de una lesión sólo un número reducido de neuronas dopaminérgicas sobrevive, estas son capaces de compensar la pérdida del neurotransmisor y continuar regulando la actividad estriatal, hasta que se exceda el 80-90% de la pérdida de dopamina en el estriado

(Zigmond y Stricker, 1972; Creese e Iversen, 1975, Hefti y cols., 1980). Resultados análogos han sido obtenidos a partir del análisis clínico de pacientes con enfermedad de Parkinson, ya que los síntomas más evidentes de la enfermedad no se manifiestan sino hasta que los niveles de dopamina han caído al 20% o menos de sus valores normales, siendo que la severidad de los síntomas es dependiente del grado de pérdida de dopamina (Hornykiewicz, 1982).

De acuerdo a la nomenclatura establecida por Dahlstrom y Fuxe (1964), los cuerpos de las células dopaminérgicas localizados en la sustancia nigra *pars compacta* y *pars lateralis* comprenden la región A9. Estos somas proyectan en curso rostral formando un campo terminal denso en los núcleos del caudado y del putamen, con poca inervación sobre el globo pálido y el núcleo entopeduncular. Los cuerpos celulares dopaminérgicos localizados en el área ventral tegmental del mesencéfalo, comprenden la región A10 y también proyectan rostralmente inervando el núcleo acumbens y el tubérculo olfatorio. En su conjunto éste agrupamiento celular ha sido denominado como el sistema dopaminérgico mesoestriatal (Lindvall y Bjorklund 1983).

La actividad dopaminérgica es regulada mediante cuatro mecanismos independientes: a) las aferentes estriato-nigrales que inervan la SNr, hacia donde las neuronas dopaminérgicas extienden un extenso campo dendrítico, cerrando un circuito de retroalimentación que regula el tono de dopamina en el neostriado. b) La autorregulación de las neuronas dopaminérgicas vía la estimulación de autorreceptores mediante sinapsis dendro-dendríticas (Roth, 1979;

Groves, 1983), c) la inervación colinérgica del pedúnculo pontino (Bolam y cols., 1991), la cual incrementa la frecuencia de disparo de las neuronas dopaminérgicas (Hernández-López y cols., 1992) y la inervación presumiblemente glutamatérgica del núcleo subtalámico (Smith y Grace, 1992).

Las neuronas dopaminérgicas que proyectan hacia el estriado interactúan sobre varias células blancas dentro del estriado, incluyendo interneuronas colinérgicas, neuronas eferentes gabaérgicas y posiblemente con las terminales córtico-estriatales glutamatérgicas. Sin embargo el blanco principal de las neuronas dopaminérgicas son las neuronas estriatales eferentes las cuales se caracterizan morfológicamente como neuronas espinosas medianas de axón largo, las que han sido involucradas en la preparación y generación interna de movimientos propositivos (Schultz y Romo, 1988, 1992; Romo y cols., 1992), en conjunto con el área suplementaria motora (Romo y Schultz, 1992). El cuerpo estriado está organizado en parches pobres en acetilcolinesterasa y una matriz rica en acetilcolinesterasa. Los parches reciben aferencias primarias de la corteza prefrontal mientras que la matriz recibe su inervación desde la corteza sensorimotora (Graybiel y cols., 1981; Gerfen, 1984).

Diversas investigaciones evidencian que la dopamina ejerce efectos fisiológicos contrarios sobre las neuronas estriatales, donde una proporción de estas neuronas responde a la dopamina inhibiendo sus propiedades de disparo mientras que otra porción responde excitatoriamente. Evidencias recientes sugieren la existencia de dos

subpoblaciones de neuronas espinosas, funcionalmente distintas de acuerdo a su sensibilidad a la dopamina. Esta sensibilidad diferencial a la dopamina, aparentemente podría estar dada por la localización de receptores D₁ y D₂ localizados diferencialmente en distintos tipos de neuronas espinosas medianas de proyección (para revisión consultar Berger y cols., 1987; Nisenbaum y cols., 1988; Gerfen, 1992).

Por otra parte se ha propuesto que la innervación dopaminérgica pueda tener un efecto diferencial sobre las neuronas de proyección estriatofugales. La dopamina podría tener un efecto excitatorio sobre las neuronas estriatales que envían proyecciones GABA/substancia P (vía directa) hacia los núcleos de salida de los ganglios basales y un efecto inhibitorio en las proyecciones GABA/encefalinas (vía indirecta) que proyecta al globo pálido externo (Hong y cols., 1985; Pan y cols., 1985; Young y cols., 1986; Alexander y Crutcher, 1990).

La influencia generalizada de la innervación dopaminérgica en el estriado podría ser, "reforzar" cualquier activación iniciada en la corteza en cualquier circuito ganglios basales- talámo- corticales mediante la facilitación de la conducción a través de la vía directa del circuito la cual tiene un efecto excitatorio neto sobre el tálamo, y suprimiendo la conducción a través de la vía indirecta que tiene un efecto inhibitorio neto sobre el tálamo (Alexander y Crutcher, 1990).

Se ha propuesto, que los efectos electrofisiológicos contrarios que la dopamina ejerce sobre las neuronas estriatales, activando o inhibiendo la actividad de éstas, puede ser debida a

una acción neuromodulatoria de la dopamina sobre la neurotransmisión gabaérgica y glutamatérgica en el neocórtico, más que una actividad de neurotransmisor *per se* (Chiodo y Berger, 1986).

En los últimos años la interacción entre la innervación dopaminérgica nigral y la innervación glutamatérgica cortical, principales aferencias al estriado, ha despertado un interés creciente. Ha sido postulado que las terminales dopaminérgicas pueden mediar la inhibición presináptica de las terminales glutamatérgicas a través de receptores D₂ situados sobre las mismas terminales glutamatérgicas, disminuyendo la liberación de glutamato desde las terminales córtico-estriatales *in vitro* (Kim y cols., 1980; Mitchell y Doggett, 1980; Rowlands y Roberts, 1980; Kornhuber y Lornhuber, 1986; Maura y cols., 1988), e inhibiendo la recaptura de glutamato de alta afinidad (Kerkerian y cols., 1987; Nieoullon y cols., 1982, 1983). Electrofisiológicamente, la liberación de dopamina decrementa la excitabilidad de las aferentes corticoestriatales prefrontales, a través de receptores presinápticos sensibles a antagonistas D₂ y a la apomorfina, mediante mecanismos que alteran la excitabilidad terminal similares a los observados en la postsinapsis (García-Muñoz y cols., 1991).

Otra forma de interacción entre estos dos sistemas, es que en rebanadas de cerebro, el glutamato puede facilitar la liberación de dopamina dependiente de calcio de forma dosis dependiente, y que este efecto puede ser bloqueado por antagonistas glutamatérgicos (Marien y cols., 1983; Rudolph y cols., 1983).

Asimismo, la estimulación eléctrica de la corteza motora produce un incremento bilateral de dopamina en el cuerpo estriado (Nieoullon y cols., 1978), y la administración de NMDA por microdiálisis incrementa significativamente la liberación de dopamina estriatal en la rata despierta, mientras que la aplicación de antagonistas NMDA la reduce (Martínez-Fong y cols., 1992; Yamamoto y Davy, 1992). Estos resultados sugieren por su parte, la existencia de receptores a glutamato en las terminales dopaminérgicas.

A la fecha, prevalece una fuerte controversia acerca del significado fisiológico e incluso la existencia de los receptores D_2 en las terminales glutamatérgicas córtico-estriales (Stoof y cols., 1982; Hattori y Fibiger, 1982; Joyce y Marshall, 1987; Umeda y Surni, 1989; Donzanti y cols., 1993), mientras que se postula la existencia de receptores a glutamato en las terminales dopaminérgicas.

Una tercera forma de interacción entre el sistema glutamatérgico y dopaminérgico ha sido propuesta por Maria y Arvid Carlsson (1990), a través de un circuito de retroalimentación negativa córtico-estriato-talámico-cortical, el cual funcionaría protegiendo a la corteza de una sobrecarga de información.

En este circuito el tálamo podría ser considerado como un filtro de entradas sensoriales, por lo que la activación del circuito córtico-estriato-talámico cerraría

el filtro impidiendo el paso de información a la corteza. De forma contraria, la activación de la vía dopaminérgica mesoestriatal tendría efectos contrarios, abriendo el filtro y permitiendo el flujo de información hacia la corteza. Morfológicamente la ventaja de esta hipótesis, es que no se requeriría del establecimiento de contactos presinápticos (axo-axónicos) dopamina-glutamato ya que además estos son escasos o inexistentes en el caudado (Hattori y Fibiger, 1982; Kornhuber y Kornhuber, 1983). De esta manera el sistema glutamatérgico córtico-estriatal y el dopaminérgico nigro-estriatal pueden operar independientemente uno del otro a nivel local, compartiendo una misma neurona blanco (espinosa mediana) y una salida común, influenciando el estado del filtro talámico en direcciones opuestas (Carlsson y Carlsson, 1990).

De acuerdo con esta hipótesis, la esquizofrenia se manifestaría como un decremento de la transmisión glutamatérgica y su posible terapéutica podría ser mediante la utilización de agonistas glutamatérgicos que reabrieran el filtro talámico y compensaran el desequilibrio glutamato-dopamina. De forma contraria en la enfermedad de Parkinson la descompensación del circuito por la ausencia de dopamina causaría el cierre permanente del filtro talámico impidiendo el flujo de información hacia la corteza. En este caso la posible terapia implicaría la administración de antagonistas glutamatérgicos para compensar nuevamente el circuito.

EFECTOS DEL ENVEJECIMIENTO SOBRE LOS GANGLIOS BASALES.

El proceso de envejecimiento en el sistema nervioso, afecta de forma generalizada y no patológica las estructuras del sistema nervioso central así como del sistema nervioso periférico. Sin embargo, algunas zonas cerebrales presentan una particular vulnerabilidad a la degeneración asociada al paso del tiempo.

Los ganglios basales entre otras, pertenecen a este tipo de estructuras, donde la SNc y el neostriado son particularmente afectados. En su conjunto las múltiples alteraciones asociadas al envejecimiento, descritas en los ganglios basales contribuyen a la disminución de la función cerebral, sin obedecer a condiciones patológicas que pueden comenzar a manifestarse alrededor de los 60 años de edad (Gottfries, 1990). Distintos estudios indican que la manifestación de síntomas motores extrapiramidales en las personas viejas es muy frecuente, siendo que dichas manifestaciones pueden deberse a la degeneración del sistema dopaminérgico (Skre, 1972; Jenkyn y Reeves, 1981; Kane y cols., 1982; Larish y cols., 1988).

Gran parte de las alteraciones asociadas a la edad reportadas hasta ahora, se vinculan con deficiencias en la transmisión dopaminérgica, lo que se traduce en la presentación de una fuerte reducción de las capacidades motoras extrapiramidales de los sujetos que las padecen. Incluso su tratamiento es complejo dado que la respuesta a la administración de fármacos que actúan en el sistema dopaminérgico se ve alterada

con la edad (Joseph y cols., 1978; Campbell y cols., 1984).

Las alteraciones que a continuación se describen comparten gran similitud, incluso conductual, con las alteraciones descritas en patologías de los ganglios basales, especialmente con la enfermedad de Parkinson, y en menor medida con la corea de Huntington, hemicorea, hemibalismos y distonías.

Alteraciones morfológicas.

Ha sido descrito que con el avance de la edad, las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra *pars compacta* no sólo disminuyen en número, sino que lo hacen proporcionalmente más rápido que otras regiones cerebrales tanto en humanos sanos (McGeer y cols., 1977, 1978, 1989; Mann y cols., 1984 a,b) como en ratones (McNeill y cols., 1984; Tatton y cols., 1991a,b). Sin embargo a la fecha no hay reportes que confirmen estos resultados en la rata.

La pérdida de neuronas en la SNc en los humanos puede alcanzar el 50% del total celular entre los 20 y 80 años de edad (McGeer y cols., 1977, 1978). Los reportes de McGeer muestran que de las 400,000 neuronas nigrales presentes en el nacimiento, menos de 200,000 sobrevivirán a los 75 años de edad. La extrapolación de la línea de regresión muestra que el número de neuronas dopaminérgicas sobrevivientes a los 100 años de edad será de 140,000. Estas cifras pueden ser comparadas con las 60,000 a 120,000 células sobrevivientes reportadas en pacientes con enfermedad de Parkinson.

En animales experimentales la pérdida celular con respecto al tiempo presenta un comportamiento exponencial, en donde las neuronas dopaminérgicas de la SNc y noradrenérgicas del locus coeruleus resultan principalmente afectadas, mientras que las neuronas amacrinas dopaminérgicas de la retina y las serotoninérgicas del rafe se ven muy poco afectadas (Tatton y cols., 1991a). Esta pérdida de las neuronas dopaminérgicas en la SNc con el envejecimiento, afecta principalmente las neuronas de proyección nigro-estriatal (A9) y en mucho menor proporción que las neuronas de proyección mesolímbica (A10) (McNeill y cols., 1984; McNeill y Koek, 1990).

El proceso neurodegenerativo de las neuronas dopaminérgicas en el envejecimiento y la enfermedad de Parkinson, parece estar fuertemente influenciado por la acción nociva del estrés oxidativo y la pérdida de la regulación del calcio. Esta posibilidad se fundamenta en algunas características de las neuronas nigrales y en alteraciones en su entorno, que aparente pueden predisponer a estas células a ser atacadas por reacciones dañinas mediadas por radicales libres y el calcio iónico.

Una de las características que distinguen a las neuronas dopaminérgicas es el alto contenido del neurotransmisor en su interior. La dopamina se encuentra en su mayoría en el interior de vesículas donde alcanza concentraciones molares, mas existen cantidades considerables en el citoplasma en concentraciones alrededor de 0.5 mM e incluso más altas (Cohen, 1983). El proceso de degradación y recambio de la dopamina, es regulado por la monoamino oxidasa B mitocondrial,

la cual realiza la desaminación del neurotransmisor recapturado y posiblemente al citoplasmático, produciendo H_2O_2 , aldehídos y amoníaco; todos ellos productos citotóxicos (Graham y cols., 1978; Cohen, 1983; Reiderer y cols., 1989; Adams y Odunze, 1991).

Paradójicamente, ha sido reportado que el H_2O_2 , puede estimular la actividad de la monoamino oxidasa B hasta en un 200% (Konradi y cols., 1986), comprometiendo a las células en un ciclo de alta producción de radicales libres. Inclusive ha sido planteado en base a lo anterior, que la terapia por levodopa podría acelerar la degeneración de las neuronas nigrales sobrevivientes en la enfermedad de Parkinson (Tanaka y cols., 1990, 1991; Olanow, 1992a), aunque algunas evidencias indican lo contrario (ver Calne, 1992).

La exposición de las células a estos agentes y a los efectos nocivos del peróxido de hidrógeno y otros radicales libres derivados del proceso, podrían acelerar el proceso de envejecimiento de estas neuronas (ver introducción). Más aún, existen reportes sobre el incremento edad-dependiente en la concentración de monoamino oxidasa B en la corteza frontal del humano, (Kornhuber y cols., 1989), y en la sustancia nigra de personas viejas y pacientes afectados por la enfermedad de Parkinson (Reiderer y cols., 1989a; Youdim y cols., 1989).

Ante estas evidencias, recientemente se inició una nueva terapia para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, basada en la utilización de inhibidores de la monoamino oxidasa B. La utilización del deprenyl (Selergine), logra mejorar la acinesia y retarda el

agravamiento de enfermedad, presumiblemente incrementando el tiempo de permanencia de la dopamina en el espacio sináptico y reduciendo la producción de radicales libres derivados de la deaminación de la dopamina (Shoulson, 1989; Tetrad y Langston, 1989; The Parkinson Study Group, 1989; DeFeudis, 1990; Myllyla y cols., 1992; Przedborski y Levivier, 1992; para revisión ver Calne, 1992; Olanow, 1992a).

Dado que la muerte celular en el tallo cerebral coincide con la pigmentación celular (Tretiakoff, 1919; Foix y Nicolesco, 1925; Hassler, 1938; Mann y Yates, 1974), por largo tiempo se ha sospechado que la muerte de las neuronas dopaminérgicas y norepinefrinérgicas coincide con su alto contenido de neuromelanina. La neuromelanina es un pigmento formado por la autooxidación de la dopamina, el cual se deposita únicamente en el citoplasma de las neuronas catecolaminérgicas, siendo un polímero complejo unido a gránulos de lipofuscina. Tanto el depósito de neuromelanina como el de lipofuscina están ligados a la polimerización de los productos oxidados de la dopamina y norepinefrina (Graham, 1978).

En los humanos viejos sanos, pueden identificarse dos tipos de neuronas catecolaminérgicas en la SNc, unas densamente pigmentadas y otras sin pigmentación (Hirsch y cols., 1989). La muerte celular en la SNc afecta principalmente a las células con mayor contenido de neuromelanina, siguiendo un patrón que comienza en la porción ventral expandiéndose hacia la región dorsal, patrón muy similar al observado en pacientes con enfermedad de Parkinson (Hirsch y cols., 1989; Gibb y Lees, 1991;

Gibb, 1991; Hornykiewicz, 1992; Kastner y cols., 1992). Más aún, en pacientes con enfermedad de Parkinson el 65% de las neuronas pigmentadas de la SNc muere en el transcurso de la enfermedad mientras que solo el 24% de las no pigmentadas se ve afectado (Pakkenberg y cols., 1991).

Por algún tiempo se aceptó que en circunstancias normales, la neuromelanina es un buen inactivante de los radicales libres, protegiendo a las células nigrales de insultos bioquímicos. Sin embargo a la luz de nuevas evidencias como las presentadas con anterioridad, indican que la neuromelanina puede participar en el proceso neurodegenerativo. La neuromelanina posee propiedades que puede alterar la cantidad, nivel de producción y distribución de radicales libres. Gracias a los múltiples grupos catecol presentes en su estructura de polímero, la neuromelanina es un eficiente quelante de metales de transición, especialmente el hierro, uniéndolo con una alta afinidad ($K_d = 13.0 \pm 0.15$ nM) (Ben-Shacher y cols., 1992). La unión de hierro a la neuromelanina potencia la peroxidación de lípidos, que podrían *per se* culminar con la muerte celular (Pilas y cols., 1988).

La asociación entre el hierro y la neuromelanina es particularmente importante ya que este ion ya sea Fe^{2+} ó Fe^{3+} es un poderoso catalizador en la formación de radicales hidroxilo (ver introducción). La distribución del hierro en el sistema nervio es muy particular, ya que se encuentra en altas concentraciones en regiones afectadas por enfermedades neurodegenerativas, principalmente en la sustancia nigra y el

globo pálido de humanos (Hill, 1988; Reiderer y cols., 1989b; Youdim, 1988; Sofic y cols., 1991; Youdim y cols., 1991; Griffiths y Crossman, 1993), monos (Bergeron y cols., 1993), y ratas (Hill y Swtzer, 1984; Hill, 1988; Barkai y cols., 1991; Sengstock y cols., 1993). Otras regiones con alto contenido de hierro son: el giro dentado, tracto óptico, el núcleo intrapeduncular, el núcleo caudado y algunos núcleos del cerebelo (Youdim y cols., 1989). Cabe señalar que el hierro se encuentra aparentemente contenido en fibras nerviosas, oligodendrocitos y lugares con deficiencias en la barrera hematoencefálica (Hill y Switzer, 1984; Hill, 1988).

Se postula que con el envejecimiento, los radicales libres derivados del H_2O_2 , son responsables de la degeneración de las membranas celulares al peroxidar sus lípidos. En este proceso, el hierro y otros metales pesados, juegan un papel sumamente importante en la generación y propagación de los radicales libres derivados del peróxido de hidrógeno, y en la neurotoxicidad inducida por calcio (Hartmann y cols., 1993; Mattson y cols., 1993).

Diversos reportes muestran un incremento en el contenido de hierro en la sustancia nigra, asociado al envejecimiento y en pacientes con enfermedad de Parkinson, así como variaciones en el contenido de diversos metales (Earle, 1968; Harrison y cols., 1968; Drayer y cols., 1986; Dexter y cols., 1987, 1989a,b, 1991a,b; Sofic y cols., 1988; Halliwell, 1989b; Reiderer y cols., 1989b; Youdim y cols., 1989; Adams y Odunze, 1991; Hirsch y cols., 1991; Cohen y cols., 1993; Griffiths y Crossman, 1993), así como en pacientes afectados

por la parálisis supranuclear y atrofia múltiple, pero no en la enfermedad de Huntington (Dexter y cols., 1991b; Cohen y cols., 1993). Asimismo, los niveles totales de hierro se ven incrementados en el estriado de pacientes afectados por la parálisis supranuclear, atrofia múltiple y enfermedad de Huntington pero no en la enfermedad de Parkinson, siendo que en todos los casos disminuyeron los niveles del metal en el globo pálido (Dexter y cols., 1991b).

Con base en estos resultados, ha sido planteado que la muerte de las neuronas dopaminérgicas pueda ser el resultado del ataque de radicales libres catalizados por el hierro, a partir del H_2O_2 producido por la deaminación de dopamina y la autooxidación de ésta a neuromelanina (Dexter y cols., 1986, 1987, 1989a,b, 1991a,b; Halliwell, 1989a; Reiderer y cols., 1989a,b; Youdim y cols., 1989; Adams y Odunze, 1991; Olanow, 1991, 1992b; Griffiths y Crossman, 1993).

Esta afirmación se ve apoyada experimentalmente, ya que la inyección de hierro en la SNc de la rata, provoca la muerte de las células dopaminérgicas (Sengstock y cols., 1993). En ratas lesionadas con 6-hidroxidopamina, la administración intracerebroventricular de desferrioxamina, quelante de hierro, logra reducir en casi 50% la pérdida de dopamina estriatal (Ben-Sachar y cols., 1991,1992). En cultivos de neuronas dopaminérgicas la adición de L-dopa o dopamina causa la muerte de estas células en presencia de hierro (Tanaka y cols., 1991), pero pueden ser protegidas por la adición de deferrioxamina (Tanaka y cols., 1990).

Aunado al aumento de la actividad de la monoamino oxidasa B y de los niveles de hierro en la SNc, se han reportado alteraciones en los sistemas fisiológicos de defensa antioxidante. Por lo que respecta a los sistemas no enzimáticos ha sido reportado que los niveles de ferritina, molécula quelante de hierro y reguladora del contenido de hierro celular (Harrison y cols., 1977), decrecientan en la totalidad del cerebro Parkinsónico y particularmente en la sustancia nigra (Reiderer y cols., 1988; Dexter y cols., 1990; 1991a,b; Cohen y cols., 1993). Estos datos sugieren la pérdida de la regulación de hierro en la enfermedad de Parkinson, que podría llevar a la generación de radicales libres, principalmente superóxido e hidroxilo.

El contenido de otros inactivantes de radicales libres, como el ácido ascórbico cerebral, no se modifican por el humano viejo o en la enfermedad de Parkinson (Reiderer y cols., 1989b), pero sí en la rata vieja (Svensson y cols., 1993).

Con respecto a los sistemas enzimáticos de protección antioxidante, ha sido reportado que la actividad de la superóxido dismutasas se incrementa linealmente con la edad en la corteza de las rata vieja (Scapa y cols., 1987). Este aumento fue detectado únicamente en la corteza cerebral pero no en otros tejidos del animal, por lo que posiblemente ésta sea una respuesta defensiva del sistema nervioso en contra de la acumulación de radicales libres generada por la deaminación de serotonina y catecolaminas por la monoamino oxidasa (Scapa y cols., 1987). También en la sustancia nigra de pacientes con enfermedad de Parkinson, ha sido reportado el aumento de la actividad de

esta enzima (Martilla y cols., 1988; Saggu y cols., 1989), siendo que los niveles de RNAm de las superóxido dimutasas dependientes de Cu y Zn a su vez están incrementados en la sustancia nigra (Hirsch, 1992) y el hipocampo (Ceballos y cols., 1989).

El sistema de glutathion también se ve afectado por el envejecimiento y en la enfermedad de Parkinson. Ha sido reportado un decremento significativo en los niveles de glutathion, sin que la actividad de la glutathion peroxidasa se vea afectada en ratas y humanos viejos y en pacientes parkinsónicos (Perry y cols., 1982; Ravindranath y cols., 1989; Reiderer y cols., 1988, 1989a; Vescovi y cols., 1993). Las regiones principalmente afectadas son el putamen, el globo pálido, la sustancia nigra, el núcleo basal de Maynert, los núcleos amigdalinos, el tálamo, el hipocampo, y la corteza frontal, occipital y cerebelosa. Cabe señalar que la disminución de glutathion, favorece la producción y elevación de los niveles de hierro (Reiderer y cols., 1989b).

Mediante la técnica inmunocitoquímica, ha sido determinado que solamente las células gliales contienen glutathion peroxidasa (Damier y cols., 1993), y que aquellas células dopaminérgicas nigrales rodeadas por células gliales con bajo contenido y actividad de glutathion peroxidasa son más susceptibles de degenerar, mientras que en la sustancia nigra de cerebros parkinsónicos, las células dopaminérgicas sobrevivientes están rodeadas de glia con alto contenido de glutathion peroxidasa (Hirsch, 1992; Damier y cols., 1993). Incluso la alta actividad de glutathion peroxidasa reduce la acumulación de lipofucsina en el

sistema nervioso de anfibios viejos (Lopeztorres y cols., 1993).

Aunado a la disminución de glutatión, se ha reportado la reducción en la concentración de catalasa en el estriado de pacientes con enfermedad de Parkinson (Ambani, y cols., 1975), lo cual apoya estas observaciones indicando que posiblemente el origen de la muerte de las células dopaminérgicas, pueda ser la pérdida de la homeostasis de radicales libres.

Todas las alteraciones descritas, coinciden con la elevación en los niveles cerebrales de productos de la peroxidación de membranas como, el malondialdehído y el decremento en los niveles de ácidos grasos polinsaturados, principal substrato para el ataque de los radicales libres. Tanto en animales experimentales (Ravindranath y cols., 1989; Lopeztorres y cols., 1992), como en humanos (Dexter y cols., 1986, 1989b; Jenner, 1989; Olanow, 1991), se ha determinado la peroxidación de membranas celulares, afectando principalmente al tallo cerebral y en particular a la sustancia nigra, e incluso en leucocitos polimorfonucleares de pacientes parkinsonianos (Kalra y cols., 1992). Estas observaciones se ven apoyadas por la tendencia de los radicales libres a aumentar durante el envejecimiento (Bondareff, 1981; Harman, 1981; Tappel, 1973a,b).

Aunado a esto, existen evidencias de la inhibición de la función de la mitocondria específicamente en la sustancia nigra, afectando el complejo I de la cadena respiratoria, lo que podría ser de graves consecuencias para la generación de energía celular. Esta alteración

posiblemente es producto de la peroxidación de la membrana mitocondrial mediante la participación de radicales libres como lo muestran las evidencias obtenidas a partir de la acción de MPTP (Jenner, 1989; Gerlach y cols., 1991; Cleeter y cols., 1992; Beal y cols., 1993) cuyos efectos se incrementan por efecto de la edad, gracias al aumento en la actividad de la monoamino oxidasa B (Irwin y cols., 1992).

El sistema nervioso central puede ser muy susceptible a la agresión del estrés oxidativo y la pérdida de la regulación de calcio, ya que su funcionamiento requiere un alto metabolismo, pero carece de almacenes de oxígeno y energéticos; es rico en sustancias fácilmente oxidables, pero es pobre en sistemas de protección antioxidante; y porque, si es dañado, no puede regenerarse. Las evidencias presentadas sobre el posible origen de la muerte de las neuronas dopaminérgicas nigrales, en base a la acción de los radicales libres es sumamente atractiva, sin embargo, las pruebas presentadas son todas indirectas y no existen pruebas directas que comprueben la participación de los radicales libres en el proceso neurodegenerativo, quedando diversos puntos aún por ser aclarados, para poder confirmar o refutar esta hipótesis.

No sólo las neuronas dopaminérgicas se ven afectadas con el envejecimiento, sino que también las neuronas espinosas medianas del neocórtex presentan alteraciones morfológicas asociadas a la edad. En esta estructura también ha sido reportada la pérdida de neuronas asociada a la edad (Bugiani y cols., 1978). Esta pérdida celular afecta fuertemente las interneuronas colinérgicas y consecuentemente la

transmisión colinérgica (Altavista y cols., 1988; McNeil y Koek, 1990; Shibata y cols., 1993). Como en el caso de la muerte de las neuronas dopaminérgicas, también ha sido propuesto que la muerte de las neuronas espinosas medianas es efecto del decremento en la función mitocondrial dependiente de la edad (Bossi y cols., 1993).

La pérdida celular en el neostriado envejecido concuerda con la disminución en las concentraciones de Met- y Leu-encefalinas y neurotensina en esta estructura, lo que puede implicar graves alteraciones neuromodulatorias (De Ceballos y cols., 1987).

Morfológicamente, el envejecimiento produce en primera instancia que la densidad de espinas dendríticas en los segmentos dendríticos distales presenten una reducción en número de hasta el 50%. Este fenómeno correlaciona con la aparición de espinas dendríticas atípicas de cabeza alargada. Posteriormente, con el avance de la edad fue identificada una marcada pérdida del 30-40% de la porción distal de los segmentos dendríticos (Levine y cols., 1986, 1988; Levine, 1988; Buell y Coleman, 1979, 1981; Ingram y cols., 1989). Efectos similares son observados ante la denervación de dopamina por lesión de la vía nigro estriatal (Ingram y cols., 1989).

Más aún, las alteraciones en las dendritas estriatales están asociadas con la pérdida de las capacidades motoras en humanos viejos sanos y con enfermedad de Parkinson (McNeill y cols., 1988a,b). Este tipo de alteraciones es dependiente de la región neostriatal, tipo celular y de la especie en estudio (Hinds y McNelly,

1977, 1981; Buell y Coleman, 1979, 1981; Connor y cols., 1980; Flood y cols., 1985).

Acompañando a estas alteraciones se presenta un incremento considerable de componentes gliales como astrocitos y microglia (para revisión ver Finch y Morgan, 1990). En el nivel ultraestructural, existe un decremento importante en la densidad sináptica en el neuropilo del caudado, una reducción significativa de las dimensiones dendríticas, acompañado de la aparición de sinapsis inusualmente grandes asociados a espinas dendríticas alargadas atípicas. Varias de estas neuronas contenían tanto en el soma como en las dendritas, inclusiones de lipofuscina granular (Levine y cols., 1988; Levine, 1988; Ingram y cols., 1989).

Alteraciones neuroquímicas.

A pesar de la extensa pérdida y alteraciones de las neuronas nigrales y neostriatales por efecto del envejecimiento, la determinación de los cambios en las concentraciones de dopamina, receptores dopaminérgicos y otros indicadores del envejecimiento en humanos y animales experimentales son en algunos casos difíciles de interpretar ya que los cambios reportados pueden ser contradictorios o verse fuertemente afectados por las metodologías utilizadas e inclusive los reportes de algunos grupos, los menos, no muestran cambios de estos indicadores.

La pérdida de dopamina ocasionada por el envejecimiento es altamente significativa en el estriado y putamen de humanos viejos sanos, donde la disminución de la concentración total del

neurotransmisor puede alcanzar hasta un 40 ó 50% de sus valores "normales" (Reiderer y Wuketich, 1976; Adolfsson y cols., 1979; Carlsson, 1981; Hornykiewicz, 1983; Morgan y Finch, 1988).

Resultados similares han sido reportados en la concentración de dopamina vesiculada en una amplia muestra de sujetos viejos sanos y con enfermedad de Parkinson (Carlsson y cols., 1980; Scherman y cols., 1989). Sin embargo en los sujetos viejos la disminución de dopamina afecta principalmente las porciones caudales del estriado y putamen, hallazgo contrario al reportado en pacientes con enfermedad de Parkinson (Kish y cols., 1992).

Esta pérdida de dopamina parece ser efecto de la degeneración de las neuronas dopaminérgicas en la SNc humana, donde se llega a perder el 50% de células. Sin embargo, en los roedores experimentales la disminución en los niveles de dopamina en el neostriado envejecido es mucho menor que la reportada en humanos, siendo aparentemente dependiente de la especie y cepa estudiada. La reducción en los niveles de dopamina alcanza en promedio del 20 a 25% de los niveles encontrados en ratas y ratones jóvenes (Finch, 1973; Demarest y cols., 1980; Osterburg y cols., 1981; Hirschorn y cols., 1982; Marshal y cols., 1983; Timiras y cols., 1984), aunque existen trabajos en donde se reporta una reducción de hasta 55 al 65% (Joseph y cols., 1978; Ponzio y cols., 1984).

En los primates los niveles de dopamina también muestran una reducción significativa por efecto del envejecimiento (Sladek y Sladek, 1979; Goldman-Rakic y Brown, 1981). Además de las

repercusiones motoras, la disminución de dopamina con el envejecimiento ha sido también involucrada en la pérdida de la capacidad de memoria en individuos y animales viejos (ver McEntee y Crook, 1990).

En animales jóvenes, las lesiones con 6-hidroxidopamina que eliminan el 80% de la población dopaminérgica nigral, existe un incremento en la capacidad biosintética de dopamina en las neuronas sobrevivientes (Zigmond y cols., 1990). Resultados similares en animales viejos fueron posteriormente reportados por el grupo de Tatton, quienes analizando las concentraciones de dopamina y sus metabolitos en ratones viejos, observaron que cuando éstas son expresadas con respecto al peso húmedo del estriado, no existe una reducción significativa del neurotransmisor. Sin embargo, cuando la concentración de dopamina se expresa con respecto a la proporción de neuronas sobrevivientes en la SNc (70% de pérdida celular), las concentraciones aumentan casi linealmente alcanzando incrementos de 5-7 veces por célula al compararse con ratones jóvenes (Tatton y cols., 1991b; Greenwood y cols., 1991).

Estos datos son el primer indicio de un incremento en la capacidad biosintética celular de dopamina con el avance de la edad que compensaría las deficiencias funcionales del envejecimiento, aclarando un poco los resultados obtenidos en roedores experimentales

Reportes recientes describen algunas alteraciones de la transmisión dopaminérgica por efecto del envejecimiento. Primeramente se reportó que la liberación de dopamina desde las terminales presinápticas también se ve

afectada con el envejecimiento. La estimulación de la liberación de dopamina *in vitro*, inducida por altas concentraciones de potasio ó anfetamina es más alta en las ratas jóvenes que en ratas viejas. Más aún, la perfusión continua de L-dopa incrementa significativamente la liberación de dopamina en el estriado de las ratas viejas, por encima de los niveles obtenidos para las ratas jóvenes (Dlunzen y cols., 1989, 1991; Venero y cols., 1991a; Friedemann y Gerhardt, 1992). Posiblemente, el decremento en la liberación de dopamina sea efecto de una reducción con el envejecimiento en la fosforilación de la sinapsina 1 (proteína involucrada en el acoplamiento de las vesículas sinápticas a la membrana plasmática) en el estriado (Magnoni y cols., 1991).

La estimación mediante voltametría de la liberación, síntesis y recaptura de dopamina en la rata anestesiada corrobora las observaciones bioquímicas (Stamford, 1989). En estos términos, la liberación de dopamina estimulada por NMDA, agonista del receptor de glutamato, se ve significativamente reducida en la rata vieja (Gonzales y cols., 1991). Asimismo, se ha reportado que el recambio de dopamina en la rata vieja se ve decrementado en un 23.9% (Veneroy cols., 1991a,b). Más aún, se ha reportado que en el neostriado la cantidad y actividad de la monoaminoxidasa A y B, enzimas responsables de la deaminación oxidativa de serotonina y dopamina liberada en la hendidura sináptica, se ven sustancialmente incrementadas en la rata vieja y pacientes con enfermedad de Parkinson (Oreland y cols., 1984; Arai y Kinemuchi, 1988; Gottfries, 1990).

Simultáneo a la pérdida celular, disminución de los niveles y deficiencias en la liberación y recambio de dopamina, se han reportado fuertes decrementos en la actividad de la tirosina hidroxilasa (TH), enzima limitante de la biosíntesis de catecolaminas. Con el envejecimiento, la disminución en la actividad de la TH en el humano puede decaer hasta el 80% de su actividad normal en un período de entre 5 y 20 años tanto en el núcleo caudado como en el putamen (McGeer y cols., 1971a; McGeer y McGeer, 1976). Nuevamente, en los roedores experimentales viejos, la disminución de la actividad de la TH es menor a la reportada en humanos siendo de entre el 15 y 30% (McGeer y cols., 1971a,b; Reis y cols., 1977; Joseph y cols., 1980; Ponzio y cols., 1982).

La reducción de la actividad de la TH concuerda estrictamente con los reportes recientes sobre las alteraciones asociadas al envejecimiento sobre la expresión genética de esta enzima (Javoy-Agid, y cols., 1990; Wolf y cols., 1991; Pasinetti y cols., 1992) y sobre todas las enzimas de la cadena biosintética de catecolaminas (Nagatsu, 1992), así como una posible disminución de la fosforilación de la enzima por las protein-cinasas A y C (Magnoni y cols., 1991), lo cual podría explicar los decrementos en su actividad.

Concomitante a estas alteraciones, se ha descrito el aumento de la liberación basal de glutamato en el estriado lateral de ratas y ratones viejos (Freeman y Gibson, 1987; Donzanti y cols., 1993), así como alteraciones en los sistemas de recaptura de glutamato de alta y baja afinidad (Price y cols., 1981; Strong y cols., 1984). En las ratas viejas, la

administración de agonistas y antagonistas D_2 , no altera la liberación de glutamato, por lo que posiblemente el sistema dopaminérgico no está involucrado en el aumento de glutamato estriatal (Donzanti y cols., 1993). Estas alteraciones aunadas a las alteraciones en la transmisión dopaminérgica mencionadas, evidencian la posible descompensación edad-dependiente entre el sistema glutamatérgico cortical y el sistema dopaminérgico nigral. Más aún, el sistema colinérgico parece no presentar alteraciones dependientes de la edad (Wang y cols., 1992).

En la postsinapsis, la identificación de alteraciones en los receptores a dopamina mediante ligandos selectivos, es la más consistente y mejor documentada de las alteraciones observadas asociadas al envejecimiento. Sin embargo existe un número reducido de reportes contradictorios, posiblemente debido a una falta de uniformidad en los métodos empleados o a diferencias entre especies (Morgan y Finch, 1988; Morelli y cols., 1990; Rinne y cols., 1990).

Apoyado en un gran número de estudios empleando técnicas diversas, uno de los marcadores en el que consistentemente se reportan alteraciones con el envejecimiento es la reducción en la unión y la densidad de receptores D_2 en el caudado pero no en el putamen de humanos sanos (Severson y cols., 1982; Wong y cols., 1984; Rinne, 1985; Hess y cols., 1987; Morgan y cols., 1987; Seeman y cols., 1987; Rinne y cols., 1993). Los cambios observados representan una reducción de aproximadamente el 30% en los receptores D_2 , alteración en estrecha relación con la enfermedad de Parkinson.

En animales experimentales de varias especies y cepas como la rata, ratón, conejo y primates, la reducción en la densidad y número de receptores D_2 afecta la totalidad del neostriado a diferencia del efecto reportado en el cerebro humano (Govoni y cols., 1978; Joseph y cols., 1978, 1981; Severson y Finch, 1980; Thal y cols., 1980; Memo y cols., 1980; Misra y cols., 1980, 1981; Randall y cols., 1981; Marquis y cols., 1981; Algeri y cols., 1982; DeBlasi y Mennini, 1982; Severson y cols., 1982; Henry y cols., 1986; Hyttel, 1987; Lai y cols., 1987; Zhou y cols., 1989; Han y cols., 1989; Rinne y cols., 1990; Camps y cols., 1993).

Los reportes al respecto concuerdan en que el decremento en los receptores D_2 con el envejecimiento es de entre el 30 al 50% a lo largo de la vida del animal, manifestándose de manera progresiva. En animales jóvenes, la densidad de receptores D_2 en el estriado, presenta un gradiente de incremento medial a lateral (Joyce y cols., 1985; Loopuijt y cols., 1987), siendo que en los animales viejos la disminución más significativa se observa en la porción lateral del estriado (Joyce y cols., 1986; Morelli y cols., 1990). Esta disminución ha sido correlacionada con la pérdida de las funciones motoras en ratas viejas (Henry y cols., 1987).

El decremento en la densidad de receptores D_2 concuerda estrictamente con los recientes reportes sobre la disminución en los niveles de RNA mensajero y proteína por alteraciones postranscripcionales de este receptor con el envejecimiento (Mesco y cols., 1991; Dela-Vadova y cols., 1992; Sakata y cols., 1992). Cabe señalar que el decremento

en la densidad de receptores D_2 por efecto del envejecimiento no parece afectar las constantes de disociación del receptor, manteniendo la misma afinidad por el ligando endógeno (Joyce y cols., 1986; Rinne y cols., 1990, 1993; May y Sugawa, 1993). Aunado a esto, ha sido reportado un decremento del 57% en la actividad de la adenilato ciclasa acoplada al receptor en ratas viejas (May y Sugawa, 1993).

Los cambios debidos al envejecimiento en el receptor D_1 son ambiguos y controvertidos. En el humano son escasos los estudios al respecto. Entre ellos se reportan incremento de la densidad (Morgan y cols., 1986, 1987), ausencia de cambios (Reiderer y Wuketich, 1976; Rinne, 1985), o decrementos del 3.7% por década tanto en el caudado como el putamen (Hess y cols., 1987; Seeman y cols., 1987; Rinne y cols., 1990).

En animales experimentales nuevamente se reportan ausencia de cambios (O'Boyle y Waddington, 1984; Rosengarten y cols., 1986; Morgan y cols., 1986; Henry y cols., 1986), o decrementos en la densidad de entre el 30% hasta el 70% (Giorgi y cols., 1987; Henry y cols., 1986, 1987; Hyttel, 1987, 1989; Hyttel y Arnt, 1987; Battaglia y cols., 1988). A pesar de esto, reportes recientes indican que la constante de afinidad por los receptores D_1 es significativamente menor (-53%) en los animales viejos (May y Sugawa, 1993).

La disparidad de los resultados parece deberse en gran medida al tipo de ligando utilizado, las metodologías empleadas y la especie y cepa de animal experimental. Reportes recientes indican que los cambios con el envejecimiento en los

receptores dopaminérgicos evaluados mediante autorradiografía cuantitativa afectan diferencialmente distintas porciones del estriado. Una de las áreas principalmente afectadas es la porción anterior del neostriado mientras que los cambios en la porción media y posterior son menores (para revisión ver Strong, 1988; Zhou y cols., 1989; Morelli y cols., 1990; Camps y cols., 1993).

A pesar de que el efecto del envejecimiento sobre los receptores D_1 no es clara, consistentemente se reporta la reducción en la activación de la adenilato ciclasa acoplada a este receptor en la rata, ratón y conejo (Walker y Walker, 1973; Govoni y cols., 1977, 1978; Puri y Volicer, 1977; Schmidt y Thorriberry, 1978; Makman y cols., 1980; Papavasiliou y cols., 1981; Cimino y cols., 1983; Henry y cols., 1986; Roth y cols., 1986; Roth, 1988; Hara y cols., 1992; Araki y cols., 1993). Los decrementos reportados van desde el 30% hasta el 75% a lo largo de la vida del animal, siendo una de las alteraciones que se pueden detectar tempranamente en el estriado envejecido. El acoplamiento deficiente entre el receptor y la enzima juega un papel importante en el decremento de la respuesta, incluso motora, de los receptores D_1 con el envejecimiento, aunque las propiedades bioquímicas de los receptores aparentemente se mantengan normales.

El recambio de los receptores dopaminérgicos en la membrana sináptica de los animales viejos es 23-35% más lenta que en los animales jóvenes, siendo directamente proporcional a la reducción de la densidad de receptores (Henry y Roth, 1986). Cabe resaltar que la densidad de receptores dopaminérgicos

puede ser regulada positivamente mediante la administración de prolactina y hormonas esteroideas, lo cual induce un incremento en la densidad de receptores y disminuye las deficiencias motoras en animales experimentales viejos (para revisión ver Joseph y Roth, 1988).

La utilización de inhibidores de la recaptura de dopamina lograron reducir las deficiencias motoras en animales experimentales viejos (Altar y Marshal, 1988), ya que la densidad de los complejos de recaptura de dopamina no se ve alterada por la edad (Inglefield y Richfield, 1992). Las alteraciones por efecto del envejecimiento en otros receptores dopaminérgicos, D_3 , D_4 y D_5 , a la fecha son aún desconocidas, así como las interacciones entre los distintos sistemas de neurotransmisión involucrados en el funcionamiento de los ganglios basales.

Alteraciones electrofisiológicas.

La información disponible sobre las alteraciones electrofisiológicas en los ganglios basales es escasa. Con respecto a los efectos del envejecimiento sobre la SNc Freeman y cols., en 1989, analizaron la actividad electrofisiológica extracelular de las células dopaminérgicas en A9 y A10 en la rata Fisher 344. Sus investigaciones mostraron que la frecuencia promedio de disparo, su distribución y el índice de actividad espontánea no cambia en estas neuronas por efecto de la edad. De la misma forma, las propiedades de disparo de neuronas identificadas antitrómicamente no mostraron cambios ante la administración de distintos agonistas dopaminérgicos como la apomorfina, quinpirol y

D-anfetamina, o la aplicación de dopamina microiontóforéticamente.

Por otra parte Lavín y Drucker-Colín (1991), reportaron que en la rata de la cepa Wistar existe una reducción cronológicamente progresiva en la frecuencia promedio de disparo estadísticamente significativa a los 20 y 22-24 meses de edad, acompañada de una reducción en el número de células capaces de mantener altas frecuencias de disparo.

Evidencias electrofisiológicas obtenidas en animales experimentales jóvenes, muestran que ante la pérdida del 96% de las células dopaminérgicas nigrales por la administración de 6-hidroxidopamina, la actividad eléctrica de las neuronas sobrevivientes no se ve alterada, manteniendo sus propiedades normales. Sin embargo, cuando las depleciones exceden el 96% de la población celular, se presenta un incremento significativo tanto en la frecuencia de disparo como en el patrón de disparo de las neuronas sobrevivientes (Hollerman y Grace, 1990).

Este cambio en la actividad eléctrica de las neuronas de la SNc en los animales lesionados, se ve acompañada por alteraciones electrofisiológicas en las neuronas de proyección nigro-talámicas de la SNr, en los primeros días postlesión, retornando paulatinamente a su estado normal. Las alteraciones reportadas son la reducción de la frecuencia de disparo, aumento en el número de neuronas que disparan en ráfagas y el incremento en el número de células silentes, indicando que las vías de salida de los ganglios basales se ven fuertemente afectadas por la depleción de dopamina (MacLeod y cols., 1990).

Cabe resaltar que cuando las lesiones con 6-hidroxidopamina exceden el 80% de la población dopaminérgica nigral existe, un incremento en la capacidad biosintética de dopamina en las neuronas sobrevivientes (Zigmond y cols., 1990). Estos resultados concuerdan estrictamente con los reportes de Tatton (1991b) y Greenwood (1991), acerca del incremento en la capacidad biosintética de dopamina en estas mismas neuronas, que sobreviven al avance de la edad.

En el neostriado el grupo de Levine ha realizado múltiples estudios acerca de las alteraciones de las propiedades electrofisiológicas en el gato viejo, concomitantes a sus estudios morfológicos. Su grupo ha reportado mediante registros extracelulares, una disminución en los índices de excitabilidad de las neuronas del caudado, que inducen un decremento en la frecuencia de disparo, menos respuestas excitatorias iniciales en respuesta a la activación por estímulos monosinápticos y un incremento en el umbral para evocar respuesta excitatorias, mayor que el requerido para evocar respuestas inhibitorias (Levine y cols., 1987a,b; Levine, 1988).

Mediante registros intracelulares de neuronas espinosas medianas neostriatales en la rata Fisher 344 vieja, se identificó la ausencia de potenciales postsinápticos excitatorios y un aumento en el umbral necesario para inducir estos potenciales. También se detectó un incremento en el umbral para inducir potenciales de acción evocados sinápticamente y mediante inyección de corriente. Estos datos fueron interpretados como una combinación de alteraciones en la comunicación sináptica

y en las propiedades de la membrana reflejándose en un decremento de la excitabilidad por efecto del envejecimiento en el neostriado (Cepeda y cols., 1989). Alteraciones electrofisiológicas muy semejantes han sido también reportadas en las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal del ratón (Scott y cols., 1988).

Diversas alteraciones asociadas a la edad que pueden influir en las propiedades electrofisiológicas de las neuronas, han sido descritas como: cambios en la composición lipídica, protéica y fluidez de la membrana celular estriatal (Henry y Roth, 1986; Bondy y cols., 1989; Soderberg y cols., 1990; Farooqui y Horrocks, 1991), disminución del potencial de membrana por el decremento en la actividad de la ATPasa K^+Na^+ en sinaptosomas de la corteza del ratón (Tanaka y Ando, 1990), disminución en la conductancia al K^+ en las neuronas granulares del hipocampo (Niesen y cols., 1988), alteraciones en la conductancia a Ca^{++} en las neuronas piramidales del hipocampo (Moyer y cols., 1992), alteraciones en las propiedades pasivas de la membrana de las motoneuronas del gato viejo (Engelhardt y cols., 1989), deficiencias en la regulación del calcio (Hartmann y cols., 1993), alteraciones en la liberación de neurotransmisores (Thesleff, 1981; Glover, 1982; Peterson y Gibson, 1983a,b; Smith, 1987) y alteraciones en los sistemas de segundos mensajeros (Magnoni y cols., 1991; Hara y cols., 1992).

Posiblemente, la amplia variedad de alteraciones ocasionadas por el envejecimiento en los ganglios basales tengan un punto de partida común; la muerte de las células dopaminérgicas de la sustancia nigra *pars compacta*. Gran

parte de las alteraciones morfológicas, bioquímicas y electrofisiológicas descritas parecen ser consecuencia de la muerte de las células dopaminérgicas, y la consecuente carencia de dopamina en los núcleos de proyección. La carencia del neurotransmisor, desencadena el mal funcionamiento de los circuitos córtico-estriato- talámico- corticales, iniciando la manifestación de los desórdenes del movimiento asociados a la edad.

El inicio y gravedad de las deficiencias motoras que se manifiestan con el envejecimiento, dependen estrictamente del grado de disminución de dopamina en los núcleos de proyección. Sin embargo, el envejecimiento también actúa sobre las células blanco de la dopamina y su sistema de transducción, afectando tanto a los receptores, como en los segundos mensajeros asociados al receptor. Si la causa de esto es la carencia de dopamina o el paso del tiempo, es a la fecha incierto.

TRANSPLANTES CEREBRALES

A partir de la década de los 80, la técnica de transplantar tejido nervioso al sistema nervioso central, se ha desarrollado rápidamente en una herramienta muy versátil dentro de la neurobiología. Al igual que las técnicas de lesión, neuroquímicas, neurofarmacológicas y de registro electrofisiológico, la técnica de transplantar tejido nervioso al sistema nervioso, se ha abierto camino como una novedosa aproximación al estudio de la función, recuperación de funciones,

desarrollo y regeneración de conexiones en el sistema nervioso central.

Gran parte de los estudios experimentales en los que se ha transplantado tejido nervioso, han sido realizados utilizando como donadores el sistema nervioso de animales en etapas fetales del desarrollo y animales adultos como receptores. Recientemente ha sido evaluada la posibilidad de utilizar el sistema nervioso de animales viejos como receptor. Esta aproximación ha permitido iniciar nuevas alternativas para el estudio de las enfermedades neurodegenerativas, ya que permite que las investigaciones encaminadas en este sentido, sean más similares y cercanas a la enfermedad en estudio, pues el sistema nervioso envejecido presenta alteraciones y deficiencias debidas a su degeneración natural, similares a las observadas en las propias enfermedades.

Aspectos Históricos.

Hace poco más de cien años que en la literatura científica apareció el primer intento de transplantar porciones de la corteza cerebral del gato adulto al sistema nervioso central de perros adultos, trabajo publicado en 1890 por Gilman Thompson profesor de fisiología del Colegio de Medicina de New York University. Sin embargo el enorme potencial de este elegante procedimiento sólo comenzó a ser ampliamente estudiado hasta el inicio de la década de los 70, siendo que el desarrollo de las investigaciones sobre transplantes cerebrales que durante los últimos 20 años se han realizado, han alcanzado tal punto de desarrollo, que la técnica ha logrado recientemente irrumpir en el campo de la medicina.

Previamente entre 1890 a 1970, algunos estudios en los que diversos modelos y animales experimentales fueron utilizados, se lograron reconocer una propiedad fundamental del tejido transplantado: éste lograba sobrevivir en el cerebro receptor (Saltykow, 1905; D'Abundo, 1913; Ranson, 1914; Dunn, 1917; Spemann, 1921; Spemann y Mangold, 1924; Murphy y Sturm, 1923; May, 1935, 1945; Tidd, 1932; LeGros-Clark, 1940; Young, 1942; Greene y Arnold, 1945; Royo y Quay, 1959). Sin embargo otros estudios obtuvieron resultados menos halagüeños, llegándose a postular que el cerebro era un medio adverso para recibir transplantes (Del Conte, 1907; Marinesco y Minea, 1907; Altobelli, 1914; Willis, 1935; Gless, 1955; Flerkó y Szentágothai, 1957; Halasz y cols., 1962; Horvat, 1966; Wenzel y Borleheir, 1969; Frotscher y cols., 1970).

El por qué existen tan pocos estudios en este período de 80 años, es difícil de entender ya que varios de los fundamentos para transplantar exitosamente tejido nervioso al cerebro, así como las técnicas que a la postre serían más utilizadas comenzaban a ser esclarecidas. Posiblemente la falta de interés en el tema, el que se considerara prioritario el desarrollo de otro tipo de investigaciones o el desconocimiento de los reportes por otros investigadores sean responsables de ello.

En este punto, señalaremos la existencia de un estudio, producto de esta época, en el que prematuramente se intentó transplantar médula espinal cadavérica humana a un paciente con lesión medular. Como consecuencia de la pobre fundamentación experimental que aún prevalecía, el resultado obtenido fue

en extremo desalentador (Woolsey y cols., 1944).

Consideraciones metodológicas.

A pesar de todo, estos estudios fundamentaron una investigación amplia, diversa y sólida entre 1970 e inicios de los 80. Durante esta época varias consideraciones metodológicas fueron resueltas con el fin de obtener resultados consistentes. Cabe resaltar que gran parte de estos estudios se realizaron en torno a los transplantes de células catecolaminérgicas los cuales son el interés principal de esta tesis, por lo que la mayor parte de las descripciones que a continuación se presentan se refieren a este tipo de transplantes.

Primeramente se estableció que la edad del sujeto donador es fundamental para lograr la mejor sobrevivencia e integración del tejido transplantado. Así, cuando se utiliza tejido nervioso fetal para su implantación se obtienen mejores índices de sobrevivencia e integración que si se utiliza tejido adulto. Esta se ha convertido en una regla general. Entre más joven sea el tejido nervioso implantado mejores resultados se obtendrán, existiendo algunas diferencias que hacen preferible la utilización de tejido fetal al tejido neonato (Olson y Malmfors, 1970; Das y Altman, 1971; Sieger y Olson, 1977; Das y Hallas, 1978; Das y cols., 1980; Olson y cols., 1982; Kromer y cols., 1983). Más aún, recientemente se ha establecido que incluso la selección de la edad gestacional del tejido nervioso fetal a transplantar es un punto clave para la obtención de buenos índices de sobrevivencia, integración e incluso

recuperación funcional (Simonds y Freed, 1990).

La edad óptima para transplantar tejido dopaminérgico del mesencéfalo fetal y en general tejido fetal del sistema nervioso central es cuando las células a implantar han realizado su última división mitótica entre los 14 y 16 días de edad gestacional (Lauder y Bloom, 1974; Brundin y cols., 1987). Sin embargo cuando se utiliza la médula adrenal como tejido donador, la edad del sujeto donador es menos crítica e incluso la médula de donadores adultos puede ser transplantada con buenos resultados (Perlow y cols., 1980; Freed y cols., 1981, 1983a; Patel-Vaidya y cols., 1985). Este principio es también válido para la realización de trasplantes en humanos, mas los aspectos éticos de la utilización de tejido fetal e incluso la realización de trasplantes al cerebro en pacientes con enfermedades neurodegenerativas y los beneficios que esta terapia puede aportar, son a la fecha extremadamente controvertidos y debatidos entre la comunidad científica internacional (Joynt y Gash, 1987; Fochtmann, 1988; Sladek y Gash, 1988; Tulipan, 1988; Colover, 1990; Denman, 1990; Hoffer y Olson, 1990; Landau, 1990; Lindvall, 1991a,b; Madrazo y Franco-Bourland, 1990a; Miles y Morley, 1990; Perry, 1990; O'Shea, 1990; Temlett, 1990; Fiandaca, 1991; Forno y Langston, 1991; Hansen y Gash, 1991; Kupsch y cols., 1991; Madrazo y cols., 1991a; Quinn y Steiger, 1991; Menei y cols., 1992; Fazzini, 1992; Fahn, 1992; Lopez-Lozano y Brera, 1993; Spenger y cols., 1992; Freed, 1993), ya que algunos de los pacientes con Parkinson que han sido transplantados, pueden desarrollar cuadros de demencia (Macias y cols., 1989; Madrazo y cols., 1990),

proponiéndose incluso la implantación de células dopaminérgicas encapsuladas (Emerich y cols., 1992; Tresco y cols., 1992), así como nuevas técnicas neuroquirúrgicas que permitan la extensión del período de tratamiento farmacológico (Beanabid y cols., 1991; Goetz y cols., 1993).

La segunda consideración metodológica resuelta en este período, fue el establecer que el sitio de implantación del trasplante es también sumamente importante para obtener índices adecuados de sobrevivencia e integración a largo plazo. Los trasplantes de tejido catecolaminérgico y en general de cualquier porción del neuroeje suelen realizarse de dos maneras, ya sea como un bloque de tejido o como una suspensión de células, con algunas variantes de acuerdo al protocolo experimental.

Cuando se utilizan trasplantes en bloque, se pueden lograr altos índices de sobrevivencia cuando el tejido se coloca en los ventrículos cerebrales donde el tejido transplantado puede nutrirse a partir de los componentes del líquido cefalorraquídeo (Rosenstein y Brightman, 1978; Perlow y cols., 1979; Freed y cols., 1980; Gash y Sladek, 1980; Krieger y cols., 1982; Drucker-Colín y cols., 1984; García-Hernández y cols., 1987) o en cavidades preformadas quirúrgicamente en la corteza cerebral donde se permite la formación de un lecho vascular por proliferación de la pia madre (Stenevi y cols., 1976, 1980; Bjorklund y Stenevi, 1979; Bjorklund y cols., 1980a; Freund y cols., 1985; Mahalik y cols., 1985). En estos casos, la vascularización del tejido transplantado puede observarse poco

tiempo después de la implantación del tejido.

Los trasplantes de células en suspensión, se obtienen por la disociación química y/o mecánica del área del sistema nervioso de interés, obteniéndose una solución de células dispersas o pequeños acúmulos celulares. A diferencia de los trasplantes en bloque, los trasplantes en suspensión pueden ser colocados en cualquier área profunda del cerebro adulto de manera precisa ocupando volúmenes discretos dentro de la estructura de implantación. Esta técnica presenta además la ventaja de que el número de células implantadas puede ser conocido y que los volúmenes implantados pueden ser estrictamente controlados. Al disminuir el volumen y aumentar la densidad de la solución, el daño ocasionado al cerebro receptor al colocar las células logra reducirse al mínimo (Bjorklund y cols., 1980b, 1983; Schmidt y cols., 1981, 1983). Más aún, esta técnica permite la implantación de células incluso no neuronales como fibroblastos y miocitos manipulados genéticamente, mezcladas con otros tipos celulares o cultivadas y prediferenciadas antes de su implantación (Brundin y cols., 1986; Rosenberg y cols., 1988; Breakefield, 1989; Horellou y cols., 1990, 1991; Date y cols., 1990a, 1991; Aguzzi y cols., 1991; Cattaneo y McKay, 1991; Cunningham y cols., 1991; Gage y cols., 1991; Schumacher y cols., 1991; Neve y cols., 1992; Stern y cols., 1992; Wiestler y cols., 1992; Jiao y cols., 1993).

Sin embargo, cuando se utiliza esta técnica el tamaño y localización del implante en suspensión deben ser controlados adecuadamente para evitar que el trasplante dañe o distorsione los

circuitos del cerebro receptor. Nuevamente en estos casos la selección de la edad gestacional del tejido catecolaminérgico a transplantar es un punto clave para la mejor sobrevivencia del trasplante. Cuando la SNc fetal cuenta con 13-15 días de gestación se pueden obtener mejores índices de sobrevivencia que si se utiliza tejido con apenas 24 horas más de gestación (Bjorklund y cols., 1980b; Brundin y cols., 1985a), lo cual correlaciona con mejores efectos funcionales inducidos por el tejido transplantado (Brundin y cols., 1987).

Otra desventaja es que los trasplantes de células mesencefálicas en suspensión, presentan los más pobres índices de sobrevivencia e integración en su nuevo ambiente, sin presentar cambios fenotípicos, aún en condiciones experimentales óptimas (Brundin y cols., 1985a, 1986; Bohn y cols., 1987; Becker y Freed, 1988). Esto limita fuertemente su utilización y en consecuencia se requiere de implantar grandes cantidades de células con el fin de lograr la integración del trasplante e inducir la recuperación de alguna función.

La pobre sobrevivencia de los trasplantes de células catecolaminérgicas al sistema nervioso central es un problema continuamente reportado, siendo una de las dificultades metodológicas que más fuertemente afectan su utilización experimental, implicando importantes consideraciones para su utilización en pacientes humanos.

En este sentido Brundin y colaboradores (1985a), reportaron que cuando se transplanta el mesencéfalo ventral, conteniendo la sustancia nigra en desarrollo, al interior del parénquima del

estriado denervado el rango de sobrevivencia de las células transplantadas es de entre 1:1000 a 1:100 de células implantadas. Esto significa que solamente entre el 0.1 al 1% de las células implantadas logran integrarse al cerebro receptor. La proporción de células sobrevivientes está en relación directa con el porcentaje de disminución de la conducta de giro, ya que en aquellos trasplantes con mejor sobrevivencia se observó una reducción más pronunciada de la conducta de giro inducida por la administración de metanfetamina.

Por lo que respecta a la sobrevivencia de los trasplantes de médula adrenal, se ha reportado que cuando la médula de ratas adultas es transplantada en suspensión al estriado denervado de ratas con lesión de la vía nigro-estriatal, solamente el 5% del total de células implantadas sobreviven después de 28 días de su implantación. Sin embargo a pesar del corto plazo y del 95% de pérdida celular, las células sobrevivientes mostraron diferenciación al extender procesos neuríticos, siendo capaces de reducir la conducta de giro (Patel-Vaidya y cols., 1985).

Por su parte Stromberg y colaboradores (1985), reportaron que cuando la médula adrenal de ratas adultas es transplantada en pequeños bloques de aproximadamente un cuarto de la médula completa, al interior del estriado denervado, al término de tres meses únicamente sobreviven 127 ± 29 células cromafines. Sin embargo, los mismos autores reportan que la infusión continua de NGF al sitio del trasplante mediante minibombas osmóticas logra incrementar significativamente el número de células sobrevivientes a 449 ± 103 , e incluso

diferenciarlas cambiando su morfología y extendiendo procesos neuríticos. Los animales así tratados, conductualmente manifestaron una notable disminución de la conducta de giro.

Este efecto no fue observado en ratas a las que se les infundió solución salina, ni el factor de crecimiento nervioso *per se* logró reducir la conducta de giro. Los autores postulan que dado que el número de células sobrevivientes en el tejido transplantado no varía con el transcurso del tiempo, posiblemente la mayor pérdida celular ocurrió durante y directamente después de la implantación del tejido (Stroberg y cols., 1985).

Con respecto a la sobrevivencia a largo plazo Freed y colaboradores (1986b), reportaron que cuando la médula adrenal de ratas jóvenes (4 a 5 semanas de edad) ó de ratas viejas (22 a 24 meses de edad) es transplantada en suspensión (10 l) al interior del parénquima del estriado denervado, al término de 6 meses el número total de células cromafines sobrevivientes fue de tan solo 200 ± 88 células dispuestas en acúmulos aislados ya que grandes porciones del trasplante se encontraban ocupadas por tejido fibroso y macrófagos. Cabe resaltar que el número de células transplantadas sobrevivientes no difirió entre las médulas jóvenes y las viejas, sin embargo únicamente los trasplantes de médula adrenal joven fueron capaces de reducir las deficiencias motoras de los animales lesionados. Asimismo, los autores reportan que en dos animales sacrificados 5 días postrasplante se encontraron 990 y 2940 células sobrevivientes respectivamente, cantidad significativamente mayor a la encontrada seis meses después del trasplante.

Más aún, estos estudios a su vez evidencian que en aquellos animales en donde en el tejido transplantado logran sobrevivir un mayor número de células cromafines (Brundin y cols., 1985a; Freed y cols., 1986b; Patel-Vaidya y cols., 1985; Stromberg y cols., 1985), ó se implantó una mayor cantidad de tejido adrenal (Herrera-Marschitz y cols., 1984), se observó una reducción más eficiente de las deficiencias motoras.

Con base en sus observaciones Stromberg y colaboradores, sugirieron que durante la obtención y manipulación del tejido a transplantar y directamente después de su implantación, ocurren procesos que afectan directamente la viabilidad de este tipo de trasplantes. Por otra parte los trabajos de Freed, sugieren que la máxima muerte celular en el trasplante ocurre en un período muy corto después de implantado el tejido. Entre los múltiples procesos involucrados en la muerte celular que podrían influir en la extensa mortalidad de este tipo de trasplantes, destacan las reacciones químicas intracelulares mediadas por radicales libres y el calcio iónico. Los mecanismos mediante los cuales ambas moléculas provocan la muerte celular han sido descritos en la introducción.

El lograr incrementar la sobrevivencia del tejido transplantado implica una mejor integración del trasplante en el cerebro receptor, y posiblemente una mejor recuperación de las funciones perdidas. Este planteamiento cobra particular importancia cuando se transplanta tejido catecolaminérgico en pacientes con enfermedad de Parkinson ya que el volumen del estriado humano es aproximadamente 200 veces más grande que el de la rata (Lindvall, 1991a). La

diferencia entre el tamaño del trasplante y el caudado receptor, implica que el tejido transplantado requiere de ejercer sus efectos sobre un volumen cerebral considerablemente mayor. Así, si únicamente logra sobrevivir el 5% del tejido transplantado los efectos benéficos que el trasplante pueda ejercer sobre la enfermedad, serán considerablemente escasos.

Más aún, el análisis histológico postmortem del cerebro de algunos pacientes que han recibido autotrasplante de médula adrenal revela la pobre viabilidad del tejido implantado en donde se han detectado pequeños fragmentos de tejido inmunoreactivo a cromogranina A (Hurtig y cols., 1989), algunas células adrenales corticales (Frank y cols., 1988), implante necrótico con algunos fragmentos inmunoreactivos a cromogranina A, en las márgenes del trasplante (Peterson y cols., 1989), y necrosis del trasplante (Hirsh y cols., 1990; Jankovic y cols., 1989; Waters y cols., 1990). Solamente un estudio ha reportado la presencia de células cromafines productoras de catecolaminas en el trasplante después de 18 meses, correlacionado con marcada recuperación del paciente (Kordower y cols., 1990a).

En la búsqueda de métodos que logren incrementar la viabilidad del trasplante, se ha reportado que la utilización del factor de crecimiento nervioso, sensiblemente aumenta la sobrevivencia del tejido adrenal transplantado. Las estrategias donde se involucra al NGF reportadas son:

- La infusión crónica del factor de crecimiento nervioso mediante

minibombas osmóticas en el sitio de trasplante (Stromberg y cols., 1985).

- El cotransplante del tejido adrenal con nervio periférico (Date y cols., 1990a, 1991; Kordower y cols., 1990b; Doering, 1992), gracias a que las células de Schwann muestran un incremento en la síntesis del factor de crecimiento nervioso posterior a la sección del nervio (Heumann y cols., 1987; Taniuchi y cols., 1986).

- Asimismo, el cotransplante de la médula adrenal con células C6 de glioma (productoras del factor de crecimiento nervioso), también incrementa significativamente la sobrevivencia del trasplante de tejido adrenal (Bing y cols., 1990).

Otras estrategias reportadas con el mismo fin y que no involucran la presencia de una fuente que suplemente el factor de crecimiento nervioso, es el autotransplante de la médula adrenal en monos lesionados con 6-OHDA. La implantación del tejido se realizó mediante pequeños bloques en forma de listón, manteniendo la integridad del tejido adrenal en la cánula de inyección y siendo implantados procurando mantener la integridad del tejido (Dubach y German, 1990). Por otra parte, basados en el poder angiogénico de la nimodipina Finger y Dunnett (1989), reportaron que la administración intragástrica de nimodipina por catorce días a las ratas lesionadas receptoras logró incrementar sensiblemente la sobrevivencia del tejido meencefálico implantado. En este caso los autores argumentan que el incremento de la sobrevivencia se debió a una rápida y profusa vascularización del tejido nigral trasplantado.

Modelos experimentales de los desórdenes motores de los ganglios basales.

Desde que James Parkinson en 1917, describiera la enfermedad que hoy lleva su nombre, no se logró contar con un modelo experimental que emulara las deficiencias observadas en esta enfermedad, sino hasta el inicio de la década de los años 1970. Para ello, fue necesario que primeramente se estableciera que la pérdida selectiva de neuronas pigmentadas, principalmente en la sustancia nigra *pars compacta* (Tretiakoff, 1919), y el subsecuente deterioro de la transmisión dopaminérgica en el cuerpo estriado (Ehringer y Hornykiewicz, 1960), son las principales características neuropatológicas de la enfermedad.

Con base en ello se intentó, inducir las mismas características clínicas de la enfermedad en animales mediante lesiones mecánicas con poco éxito. Las estrategias de trasplante, como actualmente son aplicadas en el parkinsonismo experimental y clínico, deben mucho a la neurofarmacología. Los fundamentales trabajos de Carlsson y colaboradores en 1957, en donde reportaron que la administración de levodopa podía revertir la hipocinesia inducida por reserpina en conejos, y que los efectos conductuales prestaban una fuerte correlación con la síntesis de dopamina en el estriado, dieron pauta al desarrollo de múltiples investigaciones.

Posteriormente, gracias al descubrimiento de los efectos neurotóxicos ocasionados por la 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (Ungerstedt, 1968) se logró contar con un modelo

experimental más adecuado de la enfermedad. La administración intracerebral de 6-OHDA destruye de manera altamente selectiva las neuronas dopaminérgicas y noradrenérgicas en el sistema nervioso central (Ungerstedt, 1968; Breese y Taylor, 1970; Bloom, 1971; Hedreen y Chalmers, 1972). Administrada en la sustancia nigra, esta neurotoxina destruye las neuronas dopaminérgicas induciendo consecuentemente hipersensibilidad de los receptores dopaminérgicos por el efecto de la denervación en el cuerpo estriado (Ungerstedt, 1971a). Por estas razones la 6-OHDA se ha convertido en una de las herramientas más útiles en el estudio de las enfermedades de los ganglios basales, como modelo experimental del síndrome de deficiencia de dopamina.

La neurotoxina penetra a las terminales dopaminérgicas y noradrenérgicas a través del sistema de recaptura de alta afinidad, lo que le confiere su extrema selectividad. De hecho los compuestos que interfieren con el sistema de recaptura de catecolaminas protegen a las células de los efectos citotóxicos de la 6-OHDA (Thoenen y Tranzer, 1973; Kostrzewa y Jacobwitz, 1974). Aunque los mecanismos mediante los cuales la 6-OHDA ejerce sus efectos no han sido completamente elucidados, se conoce que una vez dentro de las terminales, la 6-OHDA se acumula hasta alcanzar concentraciones críticas neurotóxicas (Kostrzewa y Jacobwitz, 1974). La 6-OHDA en el interior celular es metabolizada por la monooxigenasa liberando el radical hidroxilo, con lo que se inicia la cadena de eventos tóxicos mediados por radicales libres (Heikkila y

Cohen, 1971; Saner y Thoenen, 1971; Graham y cols., 1978).

La 6-OHDA ha sido ampliamente utilizada para producir la muerte de las neuronas catecolaminérgicas, especialmente en la vía nigro estriada, donde al eliminar las neuronas dopaminérgicas produce el síndrome experimental de deficiencia de dopamina. Este síndrome se manifiesta conductualmente por deficiencias motoras estables, bien caracterizadas y fácilmente evaluables. En la rata, la lesión unilateral completa de la SNc por 6-OHDA causa asimetría de la postura, negligencia sensorial a los estímulos aplicados en el lado del cuerpo contrario a la lesión, y dificultad para iniciar el movimiento en dirección contralateral a la lesión (Jungberg y Ungerstedt, 1976).

La característica preeminente y más utilizada experimentalmente es la asimetría motora o conducta de giro. La conducta de giro puede ser espontánea, cuando la depleción de dopamina en el estriado es mayor del 80%, ó inducida en respuesta a la administración de fármacos que facilitan la liberación de dopamina, como la anfetamina ó bien a agonistas de los receptores dopaminérgicos como la apomorfina, cuando la depleción de dopamina es del 20-65% (Fornaguera y cols., 1993). Estos efectos son consecuencia de la denervación unilateral por la cual los receptores dopaminérgicos son regulados positivamente como respuesta compensatoria a la caída de los niveles de dopamina en el lado ipsilateral a la lesión, fenómeno denominado hipersensibilidad por denervación (Ungerstedt y Arbuthnott, 1970; Ungerstedt, 1971a,b). Por ello después de la administración sistémica de

apomorfina, el animal lesionado girará en dirección opuesta al lado lesionado, como respuesta excesiva debida a la estimulación de los receptores hipersensitivos, mientras que la anfetamina producirá el giro hacia el lado lesionado dado que sólo podrá facilitar la liberación de dopamina desde el lado sano.

En los primates la administración unilateral de 6-OHDA produce efectos similares a los observados en la rata (Crossman y Sambrook, 1978). Más aún, estudios clínicos en pacientes con enfermedad de Parkinson que manifiestan deficiencias unilaterales, indican que estos pacientes presentan una tendencia espontánea a realizar movimientos unidireccionales y desviaciones asimétricas de la postura (Bracha y cols., 1987).

Las lesiones bilaterales en la rata se caracterizan por un estado de profunda negligencia conductual, acinesia, afagia, adipsia, postura jorobada y completa falta de atención sensorial (Ungerstedt, 1971c). La administración bilateral intranigral de 6-OHDA en los primates produce un síndrome conductual caracterizado por hipocinesia, temblor en reposo y rigidez muscular (Redmond y cols., 1973; Kramer y cols., 1981).

Posteriormente, el segundo hallazgo importante en este campo fue el descubrimiento e introducción del 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP). El MPTP fue recientemente descubierto como un contaminante de un narcótico sustituto en el tratamiento de heroinómanos. Todas las personas a las que les fue administrado desarrollaron, a la postre, un estado parkinsoniano

profundo (Davis y cols., 1979; Langston y cols., 1983). La administración sistémica de MPTP produce la lesión bilateral de la SNc, manifestándose conductualmente como bradicinesia persistente, postura jorobada, rigidez de los miembros, dificultad para iniciar movimientos y temblor en reposo (Burns y cols., 1983).

Experimentalmente la gran ventaja del descubrimiento de esta neurotoxina, es que exclusivamente destruye las neuronas dopaminérgicas de la SNc con gran selectividad. Por ello, inmediatamente se comenzó a utilizar extensivamente como modelo experimental del síndrome de deficiencia de dopamina (Davis y cols., 1979; Burns y cols., 1983; Langston y cols., 1984; Heikkila y cols., 1985; Forno y cols., 1986). La neurotoxicidad del MPTP varía considerablemente entre especies, afectando sensiblemente a los primates tratados sistémicamente, en donde además de la muerte celular bilateral en la SNc y los severos trastornos motores, provoca un notable aumento en la densidad de receptores dopaminérgicos estriatales (Hantraye y cols., 1986). Sin embargo, es incapaz de afectar a los roedores excepto la cepa C57 BL de ratón (Davis y cols., 1979; Burns y cols., 1983; Boyce y cols., 1984; Langston y cols., 1984; Heikkila y cols., 1984; Hallman y cols., 1985).

La vía de acción del MPTP es parecida al de la 6-OHDA en el sentido de que penetra a las terminales dopaminérgicas a través del sistema de recaptura de dopamina de alta afinidad con la misma afinidad que la dopamina (Chiva y cols., 1985; Javitch y cols., 1985). Varias transformaciones bioquímicas que involucran a la monoamino oxidasa,

deben suscitarse hasta convertir el MPTP en MPP⁺ (Chiva y cols., 1984, 1985; Salach y cols., 1984; Heikkila y cols., 1985), siendo el MPP⁺ y no el MPTP el que es internalizado en lasterminales dopaminérgicas (Chiva y cols., 1985; Javitch y cols., 1985). Los eventos citotóxicos inducidos por el MPTP no son aún completamente esclarecidos, sin embargo nuevamente se postula la participación de radicales libres (Langston y cols., 1987). Las evidencias existentes apuntan hacia la inhibición de la función mitocondrial, afectando el complejo I de la cadena respiratoria, lo que podría ser de graves consecuencias para la generación de energía celular. Esta alteración posiblemente es producto de la peroxidación de la membrana mitocondrial mediante la participación de radicales libres (Gerlach y cols., 1991; Cleeter y cols., 1992; Beal y cols., 1993).

Transplantes cerebrales en los modelos experimentales de los desórdenes motores de los ganglios basales.

No fue sino hasta que los modelos experimentales del síndrome de deficiencia de dopamina ó modelo experimental de la enfermedad de Parkinson y que los métodos para el transplante de tejido nervioso, fueron completamente desarrollados, que en la literatura aparecieron los reportes pioneros sobre la recuperación de las funciones inducida mediante transplantes cerebrales. Utilizando ratas lesionadas unilateralmente con 6-OHDA en la vía nigroestriatal, el grupo de Perlow reportó en 1979, que el transplante del mesencéfalo ventral fetal al ventrículo lateral ipsilateral a la lesión, logró reducir

significativamente la conducta de giro espontánea e inducida en las ratas transplantadas. Esta observación fue confirmada meses después por Bjorklund y Stenevi (1979), utilizando el mismo modelo pero colocando el transplante en una cavidad preformada sobre el caudado denervado.

Estos trabajos abrieron la posibilidad de inducir la recuperación de una función perdida experimentalmente mediante el transplante del tejido nervioso adecuado. Asimismo, los estudios subsecuentes demostraron mediante técnicas de histofluorescencia que algunas de las neuronas dopaminérgicas transplantadas en bloque o en suspensión sobreviven y son capaces de extender procesos hacia el estriado denervado (Perlow y cols., 1979; Bjorklund y Stenevi, 1979; Dunnett y cols., 1981a,b, 1983b). La importancia de la presencia permanente del tejido transplantado en el cerebro receptor para que persistan los efectos conductuales fue demostrada cuando la conducta de giro inducida por anfetamina previa al transplante fue reinstalada mediante la extracción quirúrgica del tejido transplantado (Bjorklund y cols., 1980a).

Se ha demostrado que en este modelo experimental, el sitio de colocación del transplante juega un papel importante en la reducción de las diversas deficiencias inducidas por la lesión de la vía nigroestriatal. Cuando el transplante de células dopaminérgicas mesencefálicas es colocado como bloque en una cavidad cortical en la proximidad del estriado dorsomedial y en el ventrículo lateral se observa una notable reducción de la asimetría motora; sin embargo estos transplantes tienen poco o ningún efecto sobre la negligencia sensorial (Bjorklund y

cols., 1980a; Dunnett y cols., 1981a). De forma contraria, la negligencia sensorial puede ser eficientemente reducida cuando el tejido transplantado es colocado en la proximidad del estriado lateral en animales con lesión bilateral (Dunnett y cols., 1983a). Más aún, la acinesia presente en animales con lesión bilateral se ve reducida únicamente cuando el tejido transplantado logra reinervar el núcleo accumbens (Dunnett y cols., 1983a; Nadaud y cols., 1984). A la fecha las únicas deficiencias que los trasplantes de células dopaminérgicas en bloque o en suspensión, no han podido aliviar son la afagia y la adipsia inducida por la lesión bilateral con 6-OHDA (Bjorklund y cols., 1980a; Dunnett y cols., 1981b, 1983a).

Poco después de la demostración de los efectos funcionales del trasplante de células dopaminérgicas mesencefálicas, en el modelo de lesión de la vía nigro estriatal, la posibilidad de transplantar otros tejidos productores de dopamina en este modelo fue rápidamente explorada, motivada por los aspectos éticos, legales y sanitarios proyectados por la utilización de tejido fetal. Primeramente se reportó que los trasplantes de células cromafines de la médula adrenal al ventrículo lateral y posteriormente al parénquima estriatal, logran sobrevivir y reducir las deficiencias motoras inducidas por 6-OHDA y MPTP tanto en ratas como en primates (Perlow y cols., 1980; Freed 1981, 1983a,b, 1985; Herrera-Marschitz y cols., 1984; Morisha y cols., 1984; Patel-Vaidya y cols., 1985; Stromberg y cols., 1984, 1985; Bohn y cols., 1987; Ridley y Beker, 1991; Taylor y cols., 1991). Posteriormente fue reportado el efecto del trasplante de células dopaminérgicas entre especies (Perlow y

cols., 1980; Brundin y cols., 1985b; Kamo y cols., 1986, 1987; Stromberg y cols., 1986; Shimizu y cols., 1990), seguidas por las células PC12 de feocromocitoma y neuroblastoma (Hefti y cols., 1985; Jaeger, 1985; Freed y cols., 1986a; Manaster y cols., 1992), las células de ganglios simpáticos (Kamo y cols., 1986) y el trasplante de células encapsuladas (ver Aebischer y cols., 1991).

De esta forma, el trasplante del mesencéfalo ventral y de médula adrenal, se han convertido en los dos tipos de tejido más utilizados para ser transplantados en el modelo de deficiencia de dopamina. Estos estudios culminaron con los primeros intentos por transplantar la médula adrenal y el mesencéfalo fetal a pacientes afectados por la enfermedad de Parkinson (Backlund y cols., 1985; Lindvall y cols., 1987; Madrazo y cols., 1987), reportes que por su parte dieron inicio una prolífica etapa de investigación clínica en donde se han transplantado más de 350 pacientes (Drucker-Colín y cols., 1988; Jiao y cols., 1988; Lieberman y cols., 1988; McRae-Deguerce y cols., 1988; Molina y cols., 1988; Olanow y cols., 1988; Tanner y cols., 1988; Allen y cols., 1989; Goetz y cols., 1989; Ko y cols., 1989; Micali y cols., 1989; Stoddard y cols., 1989a,b; Bakay y cols., 1990a,b; Ahlskog, 1990; Carvey y cols., 1990; Choy y cols., 1990; Chung y cols., 1990; García Flores y cols., 1990; Gildelberg y cols., 1990; Hitchcock y cols., 1990; Joyce y Hurting, 1990; Lopez-Lozano y cols., 1990, 1991, 1992; Machado-Salas y cols., 1990; Olanow y cols., 1990; Pezzoli y cols., 1990; Schvarcz y cols., 1990; Cederbaum y Olanow, 1991; Faraj y cols., 1991; Forno y Langston, 1991; Freeman y cols., 1991; Goetz y cols., 1991; Madrazo y cols.,

1990b, 1991b; Rafael y cols., 1991; Shults y cols., 1991; Velasco y cols., 1991; Widner y cols., 1991, 1992; Cesaro y Peschanski, 1992; Freed y cols., 1992a,b; Iacono y cols., 1992; Lindvall y cols., 1992; Sawle y cols., 1992; Spencer y cols., 1992; Stellar, 1992; Waters y cols., 1992; Freed y cols., 1993; Nishino, 1993; Olanow, 1993).

Aspectos bioquímicos.

Una condición limitante para que este procedimiento experimental logre inducir la recuperación funcional de la conducta motora, es que los trasplantes de células dopaminérgicas deben ser colocados en contacto con el estriado denervado. La necesidad de la proximidad del trasplante con el estriado receptor, se debe a la pobre reinervación desde el implante hacia el cerebro receptor. Más aún, las estimaciones que inicialmente fueron realizadas sobre la reinervación dopaminérgica del cerebro receptor utilizando la técnica de histoquímica de Flack-Hillarp, deben ser reconsideradas ante la aparición de reportes que indican la imprecisión de los datos obtenidos con esta técnica (Henschen y Goldstein, 1990; Sorensen y cols., 1992).

Con base en las estimaciones del contenido de dopamina y sus metabolitos, se ha postulado que los cambios conductuales observados en los animales transplantados, son debidos a la difusión de dopamina liberada desde el tejido transplantado el cual funcionaría como una minibomba biológica, liberando el neurotransmisor que activa los receptores hipersensitivos en el estriado denervado (Freed y cols., 1980, 1981, 1983b, 1985; Lescaudron y Stein, 1990; Bjorklund,

1991; Lindvall, 1991a,b), sin necesidad de reconstruir los circuitos neurales dañados. Sin embargo recientemente se reportó que los trasplantes de sustancia nigra y médula adrenal fetal colocados en el ventrículo contralateral al caudado denervado logran igualmente reducir la conducta de giro inducida por apomorfina (Mendoza-Ramírez y cols., 1991).

Diversos estudios bioquímicos muestran que los trasplantes de sustancia nigra en bloque o en suspensión que, logran reducir las deficiencias motoras y extienden procesos neuríticos hacia el estriado denervado, mantienen niveles metabólicos similares a los observados en la SNc *in situ*, como lo revela el consumo de ¹⁴C-2-Deoxi-D-glucosa medido por autorradiografía (Schmidt y cols., 1982, 1983). Mediante la detección de dopamina y sus metabolitos por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) se ha establecido que el tejido transplantado ya sea mesencefálico o adrenal, es capaz de sintetizar y liberar dopamina (Freed y cols., 1980, 1981, 1983b, 1985; Schmidt y cols., 1982, 1983; Stromberg y cols., 1984; Zetterstrom y cols., 1986). Más aún, se ha demostrado que los trasplantes de sustancia nigra en bloque liberan dopamina en respuesta a la depolarización inducida por concentraciones altas de potasio (Hoffer y cols., 1985; Rose y cols., 1985).

Recientemente Becker y colaboradores (1988, 1990a,b) y Takashima y colaboradores (1992), empleando la técnica de HPLC confirmaron la síntesis y liberación de dopamina, reportando que existe un incremento en la concentración del neurotransmisor y sus metabolitos en el líquido cefalorraquídeo y suero sanguíneo pero no en el caudado

denervado de los animales transplantados. Por ello sugirieron que el torrente sanguíneo es el vehículo mediante el cual la dopamina puede viajar hacia el estriado denervado; sin embargo esta observación no ha sido confirmada.

La observación general es que los trasplantes de médula adrenal y sustancia nigra no sólo sintetizan sino liberan sus neurotransmisores incluyendo dopamina, hasta niveles en algunos casos cercanos al 80% de su contenido normal, por lo que los niveles de recambio y liberación de dopamina son muy cercanos a los normales (Schmidt y cols., 1982; Freed y cols., 1983a; Stromberg y cols., 1984; Zetterstrom y cols., 1986). Estas observaciones son igualmente aplicables en humanos que recibieron el autotransplante de médula adrenal, en donde después de la cirugía, existe un incremento significativo en los niveles de dopamina en el líquido cefalorraquídeo. Ante la administración de levodopa, los niveles de dopamina en el líquido cefalorraquídeo se incrementan en factor de cuatro (Faraj y cols., 1991), por lo que ha sido propuesto que el tejido transplantado, contiene dopa decarboxilasa y sitios de almacenamiento de dopamina, que puede ser liberada reduciendo los síntomas de la enfermedad (Melamed, 1988).

Estas observaciones son particularmente importantes cuando se utilizan trasplantes de médula adrenal, dada su escasa facultad para reinervar el cerebro huésped. Reafirmando estas observaciones, ha sido establecido que la infusión directa de dopamina al estriado denervado a través de minibombas osmóticas reduce la conducta de giro inducida por apomorfina de manera

semejante a los trasplantes de médula adrenal (Stromberg y cols., 1985; Hargraves y Freed, 1986).

La hipersensibilidad por denervación de los receptores dopaminérgicos estriatales por la lesión unilateral de la vía nigro-estriatal por 6-OHDA ó MPTP, se evidencia por el incremento en el ligado de agonistas dopaminérgicos detectados por autorradiografía (Creese y cols., 1977; Creese y Snyder, 1979). La capacidad de los trasplantes del mesencéfalo ventral para normalizar la hipersensibilidad de los receptores parece ser limitada ya que solo se logra apreciar un efecto en la vecindad del trasplante en ratas (Freed y cols., 1983b) y humanos afectados por la enfermedad de Parkinson con autotransplante de médula adrenal (Ko y cols., 1989; Joyce y Hurting, 1990). Aunque la secreción de dopamina desde las células cromafines transplantadas parece ser baja (Decombe y cols., 1990), sus efectos sobre los receptores hipersensibles son similares a los obtenidos mediante la infusión crónica de dopamina en el estriado denervado (Olson y cols., 1985; Hargraves y Freed, 1986).

Aspectos electrofisiológicos y morfológicos.

Los registros electrofisiológicos han permitido establecer que los trasplantes intraventriculares de sustancia nigra contienen neuronas con un patrón de disparo semejante al observado en las neuronas dopaminérgicas de la SNc *in situ* (Wuerthele y cols., 1984). Más aún, las neuronas transplantadas identificadas por activación antidrómica, responden a la estimulación en diversas estructuras del

cerebro receptor como el estriado, la corteza prefrontal, el locus coeruleus y el núcleo dorsal del rafe (Arbuthnott y cols., 1985). Estos datos apuntan hacia la posible regulación del tejido transplantado por parte del cerebro receptor, aspecto clave en la posible reconstrucción de circuitos neuronales mediante el implante de tejido nervioso. Sin embargo existen reportes contradictorios sobre si el cerebro receptor es capaz de reinervar ó no el tejido transplantado y consecuentemente regular la función dopaminérgica.

Freund y colaboradores (1985) y Mahalik y colaboradores (1985) independientemente, reportaron mediante estudios ultraestructurales, que el tejido mesencefálico transplantado a una cavidad cortical sobre el caudado denervado, extiende procesos dirigidos preferencialmente hacia el caudado del cerebro receptor estableciendo contactos sinápticos morfológicamente funcionales. A pesar de ello, al inyectar trazadores retrógrados como la peroxidasa de raiz fuerte en el transplante, fueron incapaces de observar marcaje celular en el estriado, globo pálido y rafe del cerebro receptor, lo cual implica que el crecimiento de neuritas desde el transplante es sumamente limitado.

La ausencia de marcaje en estas áreas contradice directamente los resultados de Arbuthnott y colaboradores, y argumenta en contra de la posible inervación recíproca. Esto sugiere que el tejido transplantado podría funcionar sin la regulación o influencia del cerebro receptor. Sin embargo, Bolam y colaboradores (1987), reportaron la presencia de botones sinápticos inmunoreactivos a substancia P y

glutamato decarboxilasa en el interior del tejido transplantado, sugiriendo que podrían ser aferentes de las neuronas espinosas medianas del receptor. Desafortunadamente los autores no pudieron establecer si estas terminales se originaban de cuerpos celulares en el interior o el exterior del transplante.

De forma similar, se ha demostrado la aposición de neuronas dopaminérgicas transplantadas con neuronas estriatales (Nishino y cols., 1986a), y aferentes corticales utilizando trazadores anterógrados como la leucoaglutinina de frijol inyectada en la corteza anteromedial (Doucet y cols., 1989). Así, algunas investigaciones sugieren que el tejido transplantado no se encuentra completamente aislado en el cerebro receptor. Si las neuronas del cerebro receptor son capaces de inervar y regular la actividad dopaminérgica del transplante, entonces la manipulación farmacológica de las neuronas del receptor debe alterar la función del transplante como las aferentes nigrales son capaces de modular la actividad del cerebro normal.

En este sentido ha sido demostrado que la administración de haloperidol, antagonista de los receptores dopaminérgicos en animales con transplantes mesencefálicos, incrementa el recambio de dopamina en el tejido transplantado (Meloni y cols., 1988), sugiriendo la existencia de mecanismos de retroalimentación entre el estriado receptor y el transplante. Sin embargo, el incremento del recambio de dopamina observado podría no estar relacionado a eventos farmacológicos en el cerebro receptor, siendo posible el que fuese consecuencia de a) el bloqueo de los

autorreceptores de las células dopaminérgicas transplantadas ó b) circuitos locales dentro del trasplante que regulen la actividad de la dopamina y que son sensibles a agonistas y antagonistas dopaminérgicos. Las evidencias en favor de la inervación y regulación del trasplante desde el cerebro receptor no son concluyentes hasta el momento.

La falta de regulación verificable desde el cerebro receptor hacia el trasplante, sugiere que las neuronas dopaminérgicas transplantadas pueden no estar recibiendo la señal adecuada que induzca la liberación de dopamina hacia el estriado denervado, siendo que la dopamina del trasplante alcanzaría el estriado denervado pasivamente. Experimentalmente sería posible resolver este problema, si al transplantar neuronas dopaminérgicas se cotransplantan con neuronas excitatorias (colinérgicas), lo que promovería la continua estimulación de la liberación de dopamina de los cotransplantes.

En otros modelos experimentales como el trasplante de suspensiones celulares, obtenidas del cerebelo de ratas sanas a ratas mutantes con degeneración de las células de Purkinje, se ha reportado que las células transplantadas por un mecanismo aún desconocido logran migrar y diferenciarse en la corteza cerebelosa. Estas neuronas transplantadas migran a los dominios adecuados e inducen la formación de neuritas en poblaciones celulares específicas del cerebro receptor, integrándose sinápticamente en la corteza cerebelosa. Sin embargo el restablecimiento de las conexiones córtico-nucleares es rara (Sotelo y

Alvarado- Mallart, 1987; 1991). Observaciones semejantes no han sido realizadas en el modelo experimental del síndrome de deficiencia de dopamina.

En su elegante estudio Xu, Wilson y Emson (1991), demostraron a través del registro intracelular *in vivo*, que las células estriatales fetales transplantadas al estriado de ratas lesionadas, aunque citológicamente pueden ser caracterizadas como neuronas espinosas, sus propiedades electrofisiológicas difieren de las células espinosas del cerebro receptor. Los autores demostraron que ante la estimulación del tálamo y la corteza del cerebro receptor, fue posible registrar potenciales excitatorios e inhibitorios en las células transplantadas, indicando la reinervación del trasplante. Sin embargo, las respuestas a largo plazo de las células transplantadas, fueron sustancialmente reducidas, indicando un número reducido de contactos sinápticos y la falta de convergencia de impulsos desde las estructuras que normalmente inervan estas células. Estos estudios sugieren que aunque el tejido transplantado pueda mantener sus características citológicas y ser inervado por el tejido receptor, su capacidad funcional es limitada y que la acción que el cerebro receptor puede ejercer sobre el tejido transplantado es también funcionalmente limitada.

Interacciones tróficas.

Con base en los efectos que la adición de factores tróficos tiene sobre los cultivos celulares (para revisión ver Crain, 1987), recientemente se ha propuesto que en la recuperación funcional de algunas deficiencias experimentales se ven

involucradas influencias tróficas entre el tejido transplantado y el cerebro receptor. Aunque los mecanismos de las citadas influencias tróficas no han sido en la mayoría de los casos esclarecidos, se ha sugerido que éstas estén mediadas a través de la posible participación de factores tróficos. Se ha logrado identificar que las influencias tróficas son recíprocas entre el cerebro receptor y el tejido transplantado, interactuando de tal forma que la lesión del cerebro receptor y el tiempo de implantación del trasplante puede condicionar la sobrevivencia y emisión de neuritas del tejido transplantado (para revisión ver Nieto-Sampedro y cols., 1987). En este proceso parece intervenir la reorganización de las moléculas de reconocimiento celular L1 y N-CAM en el cerebro receptor (Poltorak y cols., 1993).

Entre los modelos experimentales en los que se propone que la recuperación funcional esté mediada por la acción de factores tróficos se encuentra el trasplante de células serotoninérgicas al hipocampo de ratas adultas lesionadas (Zhou y cols., 1987) y ratas viejas (Azmitia, 1987; Steinbusch y cols., 1987), el trasplante de células colinérgicas septales al hipocampo de ratas adultas y viejas con lesión de la fimbria-fornix (Bjorklund y Gage, 1987; Wets y cols., 1991), el trasplante de corteza visual fetal a la corteza visual adulta lesionada en la restitución de la vía genículo-cortical (Cunningham y cols., 1987), la reorganización del cuerpo calloso por trasplantes de astrocitos en ratones postnatales y adultos con calotomía (Smith y cols., 1987) y la reorganización de la corteza cerebelosa por trasplantes de cerebelo fetal (Cedilla y Alvarado-Mallart, 1987, 1991).

En el modelo del síndrome de deficiencia de dopamina, cuando se evalúan los posibles mecanismos de acción mediante los cuales el tejido transplantado logra la recuperación del sistema dopaminérgico, se debe interpretar cuidadosamente hasta qué grado la recuperación puede ser atribuida al trasplante en sí ó tal vez a la plasticidad del cerebro receptor. Dado que a) el tejido transplantado muestra una escasa capacidad para reinervar el cerebro receptor, b) que los mecanismos de liberación y difusión de dopamina desde el trasplante no han sido aún esclarecidos y c) la falta de reducción de la hipersensibilidad de los receptores dopaminérgicos en el estriado denervado, la posible participación de influencias tróficas en la reducción de las deficiencias motoras, ha sido recientemente postulada.

Algunos estudios sugieren que los trasplantes de la sustancia nigra o de la médula adrenal fetal pueden ejercer influencias tróficas sobre el cerebro lesionado. Al respecto se ha reportado que el trasplante intraestriatal de médula adrenal induce un incremento de la inmunofluorescencia a tirosina hidroxilasa (TH) en la vecindad del tejido transplantado, a pesar de que en el trasplante no se lograron identificar células inmunoreactivas a TH y morfológicamente se evidenciaba la pobre sobrevivencia del trasplante en ratones (Bohn y cols., 1987) y primates (Fiandaca y cols., 1988; Hansen y cols., 1988) tratados sistémicamente con MPTP. Este fenómeno fue observado únicamente en el estriado transplantado y no en el estriado contralateral por lo que la aparición de fibras inmunoreactivas en la vecindad del trasplante difícilmente se puede deber a una recuperación

espontánea como la reportada por Corsini (1985) o inducida por la administración de gangliósidos GM1 (Date y cols., 1989). Cabe resaltar que en los ratones viejos tratados con MPTP, la recuperación de las fibras dopaminérgicas estriatales inducida por el trasplante de la médula adrenal es limitada (Date y cols., 1990b).

Estos estudios sugieren que posiblemente la médula adrenal transplantada puede ejercer un efecto trófico sobre las neuronas de la SNc que sobreviven al efecto de la lesión, induciendo la formación de nuevas neuritas que en estos casos rodean al trasplante. Más aún, resultados similares en los que se observa un halo de fibras inmunorrectivas a TH rodeando el tejido transplantado necrótico, han sido reportados en un paciente humano afectado por la enfermedad de Parkinson, al que se le practicó el autotransplante de médula adrenal y mostró una notable y persistente disminución de los síntomas de la enfermedad (Kordower y cols., 1990). En otro paciente el cual fue sometido al mismo procedimiento, la mejoría de los síntomas se observó sólo durante dos semanas, y los resultados de la autopsia realizada cuatro meses después del autotransplante, no revelaron un halo de fibras rodeando al tejido adrenal, que se encontraba en proceso de necrosis (Peterson y cols., 1989).

Por otra parte Pezzoli y colaboradores (1988), reportaron que el trasplante de tejido adiposo en combinación con la infusión intracerebral de NGF logran reducir la conducta de giro tan eficientemente como el trasplante de médula adrenal en ratas viejas con lesión unilateral de la vía nigroestriatal. Sin embargo la infusión de NGF *per se*, no es

capaz de reducir la conducta de giro en ratas adultas (Strombreg y cols., 1985; Olson y cols., 1985). Estos resultados sugieren que posiblemente la implantación quirúrgica del tejido puede resultar en la destrucción de áreas aledañas del estriado circundante liberando así factores que promuevan tanto la sobrevivencia del tejido transplantado (Nieto-Sampedro y cols., 1987; Freed y Cannon-Spoor, 1989), como la respuesta plástica del cerebro receptor (Fiandaca y cols., 1988).

Al respecto existen reportes en los que se argumenta que la sintomatología de la enfermedad de Parkinson puede ser parcialmente revertida por la lesión de porciones del núcleo caudado (Meyers, 1951; Spiegel y cols., 1952).

El reporte de la existencia de un factor purificado a partir de la glándula adrenal de la rata, la cual selectiva y eficientemente induce la liberación de dopamina (Chang y Ramirez, 1988), podría a su vez participar en la reducción de las deficiencias motoras en ratas con trasplantes de médula adrenal.

Transplantes cerebrales al cerebro envejecido.

El trasplante de tejido nervioso al cerebro envejecido ha sido escasamente explorado, por lo que la mayoría de la información concerniente a los efectos funcionales inducidos por el tejido transplantado proviene de modelos experimentales en animales jóvenes o adultos. Comúnmente el paradigma convencional para el desarrollo de modelos experimentales de enfermedades neurodegenerativas ha sido el estudiar en animales jóvenes, las consecuencias

conductuales de la lesión selectiva de áreas cerebrales que se conoce clínicamente están involucradas en la manifestación de la enfermedad, como la lesión del sistema dopaminérgico nigro-estriatal.

Esta aproximación tiene como objetivo la identificación de los mecanismos fisiológicos y los sistemas de neurotransmisión necesarios para el funcionamiento normal, así como específicamente anormal del sistema nervioso. Estos modelos por lesión requieren de hipótesis particularmente específicas concernientes a las estructuras y sistemas de neurotransmisión responsables de los síntomas observados, siendo desventajosos al obviar la complejidad del proceso de envejecimiento en relación con la enfermedad. Por ejemplo el modelo experimental del síndrome de deficiencia de dopamina se basa en lesiones unilaterales, mientras que en la enfermedad de Parkinson la degeneración de la vía nigroestriatal es evidentemente bilateral. La alternativa experimental para el estudio de las deficiencias motoras producto de la degeneración natural del sistema nervioso es la utilización de animales viejos como modelo de estudio (ver Campbell y cols., 1980, 1984; Dean y cols., 1981; Ingram y Brennam, 1984; Joseph y cols., 1978, 1983; Marshall y Berrios, 1979; Marshall, 1982, 1983).

Como en el humano, las ratas viejas desarrollan deficiencias conductuales que dependiendo del paradigma experimental utilizado pueden ser bastante específica y profundas. Particularmente, se ha adoptado el severo decremento de la capacidad motora dependiente de la edad, como modelo experimental de los

desórdenes extrapiramidales. Sin embargo actualmente no existen evidencias que apoyen el que los animales viejos desarrollen enfermedades neurodegenerativas homólogas a las observadas en el humano. A pesar de ello, las deficiencias evaluadas y su correlación con las alteraciones fisiológicas son lo suficientemente similares para que sean interesantes en perspectiva de las alteraciones que ocurren en el envejecimiento humano.

Los trasplantes al cerebro han sido recientemente introducidos como una nueva herramienta experimental para el estudio de la recuperación funcional en cerebros dañados por el envejecimiento. En los animales viejos, el trasplante de poblaciones neuronales definidas colocadas en áreas discretas del cerebro receptor podría entonces ser potencialmente útil en la identificación de los sistemas neuroquímicos y circuitos neuroanatómicos asociados con las diversos componentes de las deficiencias conductuales observadas por efecto del envejecimiento.

Los reportes iniciales en los que se transplantó tejido nervioso al cerebro envejecido, mostraron que a pesar de los procesos neurodegenerativos que afectan al cerebro receptor, el tejido transplantado logra sobrevivir y revertir parcialmente algunas deficiencias asociadas al envejecimiento. Sin embargo evidencias recientes sugieren que la edad del receptor afecta considerablemente la sobrevivencia e integración del implante (ver Eriksdotter-Nilsson y Olson, 1989). De acuerdo con el procedimiento experimental utilizado, el análisis morfológico del tejido transplantado muestra distintas características. Los

transplantes de neuronas fetales hipotalámicas (Sladek y cols., 1982; Matsumoto y cols., 1984, 1987; Rogers y cols., 1984; Huang y cols., 1987; Huang, 1988), así como del locus coeruleus (Sladek y cols., 1984) implantados como bloque de tejido en el tercer ventrículo logran sobrevivir sin que aparentemente existan diferencias entre los transplantes en animales jóvenes y viejos.

En otro modelo experimental, las células serotoninérgicas del rafe fetal implantadas como acúmulos celulares dentro del hipocampo envejecido, logran sobrevivir y extender procesos hacia el hipocampo receptor respetando la organización laminar tanto en animales adultos como viejos; sin embargo la densidad de la inervación es mucho mayor en el cerebro joven que en el cerebro viejo (Azmitia y cols., 1981). Después de 10 semanas de implantado, los transplantes de rafe son capaces de restituir hasta en un 80% los niveles de serotonina liberada dependiente de Ca^{++} , estimulada por K^+ en el hipocampo denervado de ratas viejas (Steinbusch y cols., 1987). En este mismo modelo se ha reportado que en el largo plazo las células serotoninérgicas, aunque presentes en el transplante, no mantienen su viabilidad ya que la recaptura de serotonina de los animales viejos transplantados disminuye hasta los niveles pretransplante después de tres meses (Azmitia, 1987).

También se reportó que la capacidad de las neuronas serotoninérgicas transplantadas para emitir neuritas a través de un tracto de laminina colocado por encima del transplante es sumamente reducida en los animales viejos (García-Hernández y cols., 1989). De igual forma, ha sido reportado que los

transplantes de células en suspensión del mesencéfalo ventral y del septum al interior del estriado e hipocampo logran sobrevivir en el cerebro adulto hasta por períodos de 3 a 4 meses; sin embargo el crecimiento de fibras desde los transplantes fue menor al observado en ratas jóvenes lesionadas con el mismo tipo de transplantes (Gage y cols., 1983a). Estos estudios en conjunto sugieren que en el cerebro envejecido puede existir un medio ambiente más desfavorable para el crecimiento e integración del tejido transplantado que en el cerebro receptor adulto, por lo que al realizarse transplantes en el cerebro envejecido se debe considerar cuidadosamente la sobrevivencia e integración funcional del tejido implantado en el cerebro receptor.

A largo plazo, el transplante de corteza entorrinal fetal a ratas adultas logra sobrevivir hasta por dos años después de implantado, mostrando características morfológicas similares a las observadas en los transplantes a corto plazo en el cerebro adulto, e incluso tanto el transplante como la corteza receptora circundante se mantuvo un patrón de tinción a acetil colinesterasa característico de las etapas tempranas postnatales (Russel y cols., 1990).

Contrastando con este reporte, otras evidencias señalan que el tejido transplantado muestra los mismos signos de envejecimiento, que el tejido nervioso receptor. En este sentido se reportó que después de un año, los transplantes de sustancia nigra fetal al ventrículo lateral en 80% de los casos, se desarrollaron aislados o parcialmente integrados al cerebro receptor. Al sacrificar a los animales transplantados en diferentes

etapas, se comprobó que el crecimiento y desarrollo de las células transplantadas fue comparable al desarrollo de la SNc *in situ* en ratas de las mismas edades, sólo hasta los 150 días postransplante. A partir de entonces las células transplantadas mostraron síntomas de envejecimiento como engrosamiento del soma y las dendritas, espacios claros, vacuolas, incremento de lisosomas en el citoplasma, disminución del retículo endoplásmico y depósitos de lipofuscina. Acompañando a estas alteraciones, se encontró una reducción en el número de células inmunoreactivas a TH y el volumen del transplante comenzó a ser ocupado por elementos gliales (Shetty y cols., 1991; Gopinath y cols., 1991).

Resultados similares fueron reportados por Gerhardt y colaboradores (1991), en donde después de 24-28 meses postransplante, los implantes de locus coeruleus fetal a la cámara anterior del ojo, mostraron signos de degeneración celular y una marcada disminución en la liberación de norepinefrina inducida por potasio.

En cuanto a la recuperación funcional inducida por el tejido transplantado en animales viejos se ha reportado que los trasplantes colinérgicos obtenidos de la banda diagonal septal fetal, colocados en el hipocampo de ratas viejas intactas, son capaces de mejorar el desempeño de los animales transplantados en tareas de memoria espacial en varios paradigmas experimentales (Gage y cols., 1984a,b; Gage y Bjorklund, 1986; Bjorklund y Gage, 1987; Schenk y cols., 1990). De la misma manera, se ha reportado que los trasplantes que contienen el hipotálamo basal colocados en el tercer ventrículo de ratas viejas de ambos sexos, son capaces

de restaurar la función sexual mediante el incremento de la función neuroendocrina del eje hipotálamo-hipofisario e incluso afectan el aparato reproductor de los animales transplantados (Matsumoto y cols., 1984, 1987; Rogers y cols., 1984; Huang y cols., 1987, 1988). También se ha reportado que las deficiencias conductuales relacionadas con deficiencias dependientes de la edad sobre la inervación noradrenérgica logran ser reducidas por el transplante de locus coeruleus fetal al tercer ventrículo de ratas viejas (Collier y cols., 1987).

Por lo que respecta al transplante de tejido dopaminérgico con el fin de aliviar las deficiencias motoras en animales viejos existen pocos reportes. Gage y colaboradores (1993b), evaluaron las capacidades motoras de ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley con 21 a 23 meses de edad mediante una batería de pruebas motoras diseñada por Wallace y colaboradores (1980). Conductualmente los animales viejos mostraron severas deficiencias motoras con respecto al desempeño de los animales jóvenes en cada una de las pruebas utilizadas. A las ratas viejas les fue entonces transplantado el mesencéfalo ventral de fetos de 13-14 días de gestación conteniendo la sustancia nigra y el área ventral tegmental en desarrollo. El tejido fue colocado en suspensión mediante seis inyecciones distintas conteniendo 2 l de tejido cada una en distintas porciones de la cabeza del núcleo caudado. Los animales transplantados fueron nuevamente evaluados entre 11 y 14 semanas postransplante, mejorando en solo dos de las pruebas utilizadas: caminar sobre una viga cuadrada y una viga redonda, sin mostrar mejoría en la capacidad para mantenerse suspendidas,

la cantidad de actividad generalizada, capacidad para descender por una plataforma inclinada y capacidad de nado.

Por otra parte Pezzoli y colaboradores (1988), reportaron que el trasplante de médula adrenal logró disminuir la conducta de giro de ratas de la cepa Sprague Dawley de 24-27 meses con lesión de la vía nigro estriatal por 6-OHDA. Sin embargo el resultado más importante de su estudio, fue el que el trasplante de tejido adiposo colocado en el caudado en combinación con la infusión continua de NGF mediante minibombas osmóticas, logró reducir significativamente la conducta de giro de los animales viejos lesionados.

En el modelo del síndrome de deficiencia de dopamina inducido por MPTP, recientemente se reportó que el trasplante de médula adrenal fetal al caudado denervado de ratones C57BL/6 con doce meses de edad no logra inducir un halo de reinervación dopaminérgica que circunda al trasplante como lo hace en los animales jóvenes (Date y cols., 1990b).

Con respecto a las alteraciones en la actividad electrofisiológica de las neuronas dopaminérgicas de la SNc observadas en ratas de la cepa Wistar con 18, 20 y 22-24 meses de edad, recientemente se ha reportado que el trasplante de la médula adrenal fetal al ventrículo lateral logra restablecer parcialmente la frecuencia de disparo de estas neuronas, sin embargo no se observaron efectos sobre el número de neuronas capaces de disparar a altas frecuencias observadas en las ratas jóvenes (Lavin y Drucker-Colín, 1991).

Corolario.

A pesar de los importantes avances experimentalmente logrados durante las últimas dos décadas, nuevas interrogantes han surgido mientras que viejas preguntas permanecen sin ser completamente esclarecidas. Primeramente se requiere de un conocimiento más profundo acerca de los mecanismos de acción mediante los cuales el tejido transplantado logra inducir la recuperación de una función.

La sugerencia experimental presentada sobre la posible reconstrucción de circuitos neurales en el cerebro dañado mediante la implantación del tejido nervioso, a través de la reinervación funcional recíproca entre el cerebro receptor y el tejido transplantado es de suma importancia, aunque la reinervación mutua es insuficiente y como se mencionó anteriormente esta posibilidad está aún lejos de ser esclarecida. Surge entonces la pregunta de cuan "inteligentes" deben ser las neuronas transplantadas y en qué medida es necesario que sean reguladas por el cerebro receptor con el fin de obtener mejores efectos funcionales.

Alternativamente si como algunos autores han propuesto, el tejido transplantado actúa funcionalmente como una bomba biológica capaz de aportar y restituir parcialmente los neurotransmisores faltantes, se requeriría de una mejor comprensión de los mecanismos de difusión y acción del neurotransmisor en las neuronas receptoras. Algunos de los estudios citados, han abierto indirectamente y otros más directamente, la posibilidad de que el tejido transplantado logre inducir la

recuperación de alguna función perdida, ejerciendo una acción trófica sobre el cerebro receptor preservado o estimulando las neuronas residuales y/o compensatorias. Las evidencias aportadas al respecto son sumamente sugestivas, sin embargo resultan aún inconcluyentes.

Por otra parte, es de suma importancia el establecer cuál es la capacidad del tejido transplantado para reducir y mantener eficientemente la función normalizada a largo plazo en este y otros modelos experimentales ya que algunos estudios sugieren el que el tejido transplantado envejezca simultáneamente con el cerebro receptor. Esto debe tomarse en consideración, sobre todo si continúa la práctica de esta técnica en pacientes humanos con enfermedades neurodegenerativas.

Finalmente, en vista de la escasa

capacidad de sobrevivencia de los trasplantes de tejido catecolaminérgico, se requieren diseñar técnicas que permitan disminuir los índices de mortalidad en el corto y largo plazo, con el fin de lograr la mejor integración del trasplante para obtener mejores resultados experimentales y ofrecer, en su caso, mejores condiciones terapéuticas.

HIPOTESIS

Las deficiencias motoras asociadas al envejecimiento, son debidas en parte al funcionamiento deficiente del sistema dopaminérgico nigro estriatal, por lo que la administración de fármacos que logren incrementar la transmisión dopaminérgica ó los trasplantes de tejido dopaminérgico fetal, podrán mejorar significativamente la coordinación motora de ratas viejas que reciban estos tratamientos.

MATERIALES Y METODOS

RESULTADOS

ESTUDIO 1.

A NEW MOTOR TEST SENSITIVE TO AGING AND DOPAMINERGIC FUNCTION. *Journal of Neuroscience Methods.* (1991) 39: 153-161.

ESTUDIO 2.

REDUCTION OF MOTOR IMPAIRMENT BY ADRENAL MEDULLA TRANSPLANTS IN AGED RATS. *Physiology and Behavior.* (1993) 54: 589-598.

NSM 01280

A new motor test sensitive to aging and dopaminergic function

René Drucker-Colín and Fernando García-Hernández

Depto. de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70-600, México 04510 D.F. (Mexico)

(Received 4 March 1991)

(Revised version received 3 May 1991)

(Accepted 31 May 1991)

Key words: Motor test; Aging; Dopamine; Haloperidol; Amphetamine; L-Dopa

Neurodegenerative disorders which involve motor impairment is characteristic of old age. Although there are a few tests which attempt to assess motor incapacities, many have utilized scales which have either a great deal of subjective evaluations or are subject to learning-performance complexities. This study describes a method able to measure motor impairment of aging rats which is subject to dopaminergic influences and has negligible practice effects. The test is designed so that rats have to traverse 2 meter beams of 15° inclination whose widths 3, 6, 12, 18 and 24 mm are changed on each test session using a table of random numbers. The time ceiling allowed for traversing the 2 m beams was established at 120 sec. 3-month-old rats ($n = 20$) and aged rats ($n = 20$) with a mean age of 26.5 ± 3.8 months ranging from 23 to 34 months were utilized in this study. All young rats traversed the beams, independently of beam width, while virtually none of the old rats traversed the 3 and 6 mm beams. However, as the beam width increased more and more aged rats ascended the beam. Nevertheless, there were always a few old rats who were unable to cross even on the widest beam. When young rats were fitted with a lead belt which increased their body weight by approximately 40%, they still traversed all beam widths. On the other hand, haloperidol (0.1 and 0.2 mg/kg) severely impaired the performance of young rats. Conversely, administration of amphetamine (1.0 mg/kg) or L-dopa (50 mg/kg) to old rats substantially improved their performance. The results suggest that beam taxis appears to be an effective and efficient test for screening motor dysfunction in aged rats and can be amenable to studies on changes of motor capabilities as a result of drugs and/or brain damage.

Introduction

A deterioration in a variety of central nervous system functions is a widespread characteristic of the aging process. Underlying this deterioration a number of neurochemical and morphological changes have been documented (Bugiani et al., 1978; Finch et al., 1981; Severson et al., 1982; Strong et al., 1980). Probably the brain system most widely studied in relation to aging has been the nigro-striatal system, because a variety of neurological disorders with motor disturbances

involve pathological changes in the basal ganglia. The best understood neurodegenerative disorder is probably Parkinson's disease, for which in addition there is a rodent model (Ungerstedt, 1971a,b) widely used in pharmacological and transplant studies (Ungerstedt, 1971a,b; Perlow et al., 1980; Bjorklund et al., 1980; Dunnett and Richards, 1990). Unfortunately, the rodent model of Parkinson's disease involves the unilateral application of the neurotoxin 6-hydroxydopamine (6-OHDA) which can completely destroy the substantia nigra (SN) pars compacta. However, the Parkinson disease process is age related and involves a gradual bilateral degeneration of the SN. Therefore, it would be more appropriate to study aged rats and test their motor capabilities, assuming that motor behavior may be related to pro-

Correspondence: Dr. René Drucker-Colín, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70-600, 04510 México, D.F., Mexico.

gressive nigrostriatal degeneration. Several tests have been developed previously (Marshall and Berrios, 1979; Campbell et al., 1980; Dean et al., 1981; Joseph et al., 1983) but these tests are either dependent on subjective criteria which make their reliability across observers from different laboratories difficult or else the tests rely on reflexive or memory aspects of behavior rather than on pure motor capabilities. There are a few tests which seem to specifically test motor capabilities, but these appear to be subject to performance improvements with practice (Campbell et al., 1980). This is a major problem for many applications because it precludes repeated testing. In this paper we report a new test which is not subject to practice effects and is capable of

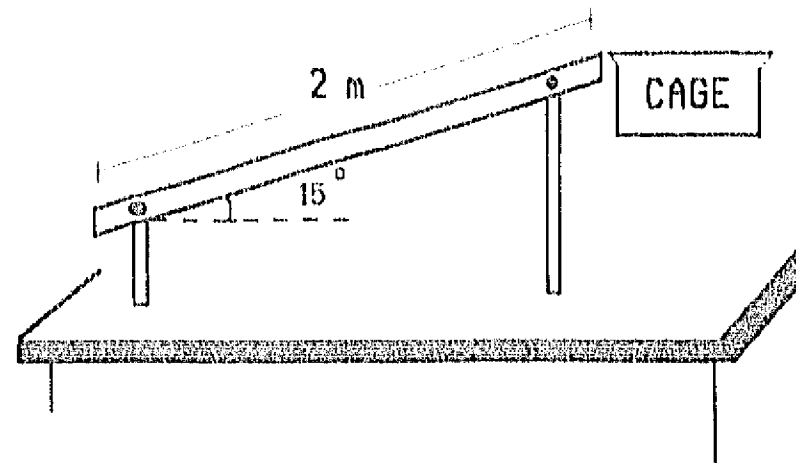


Fig. 1. Illustrates the set up of the test. The inclination of 15° is obtained by the heights of the pedestals which support the wood strips and which are 42.5 and 100 cm.

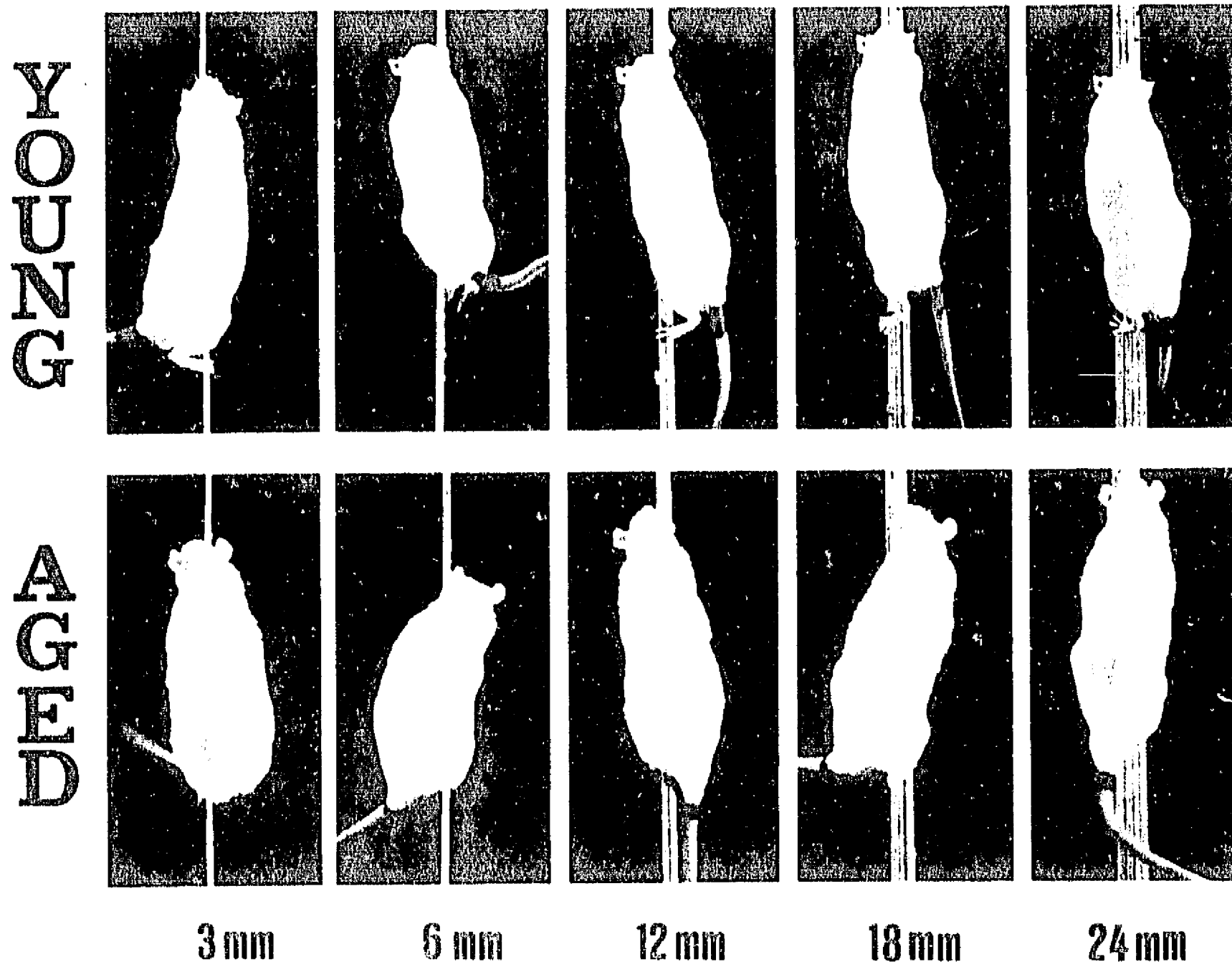


Fig. 2. Top view photographs illustrating the relation between beam widths and size of rats.

detecting motor deficits in aged rats as well as rats with altered dopaminergic function.

Materials and methods

Subjects

Forty male Wistar rats were used in this study. Of these rats 20 were 3 months of age and weighed 245 ± 48 g at the beginning of the study and 230 ± 42 g at the end. The remaining 20 rats were the aged rats whose mean age was 26.5 ± 3.9 months and mean weight 543 ± 72 g at the beginning of the study and 509 ± 74 g at the end. All rats were healthy from the beginning till the end of the testing period which lasted approximately 2 months.

Apparatus

Fig. 1 illustrates the testing apparatus. It consists of 2 meter wooden strips supported by two

pedestals at each end. The pedestals were of different heights (42.5 cm and 100 cm) in order to allow for an inclination of 15° . This inclination was enough to stop animals from crawling over the beam. The width of the strips varied and were 3, 6, 12, 18 and 24 mm. Widths were varied by merely clamping strips together in order to obtain desired widths. At the end of the inclined strip a cage was placed so that the animals could step into the home cage. Figs. 2 and 3 show actual photographs of rats traversing all the beam widths used.

Testing

All rats were trained to walk over a beam for five days before testing. The test procedure was identical for young and aged rats and performed in the same environment between 10:00 a.m. and 12:00 a.m. The rat was placed on the lower end of the beam and the time needed to reach the home cage was recorded. A ceiling of 120 sec was

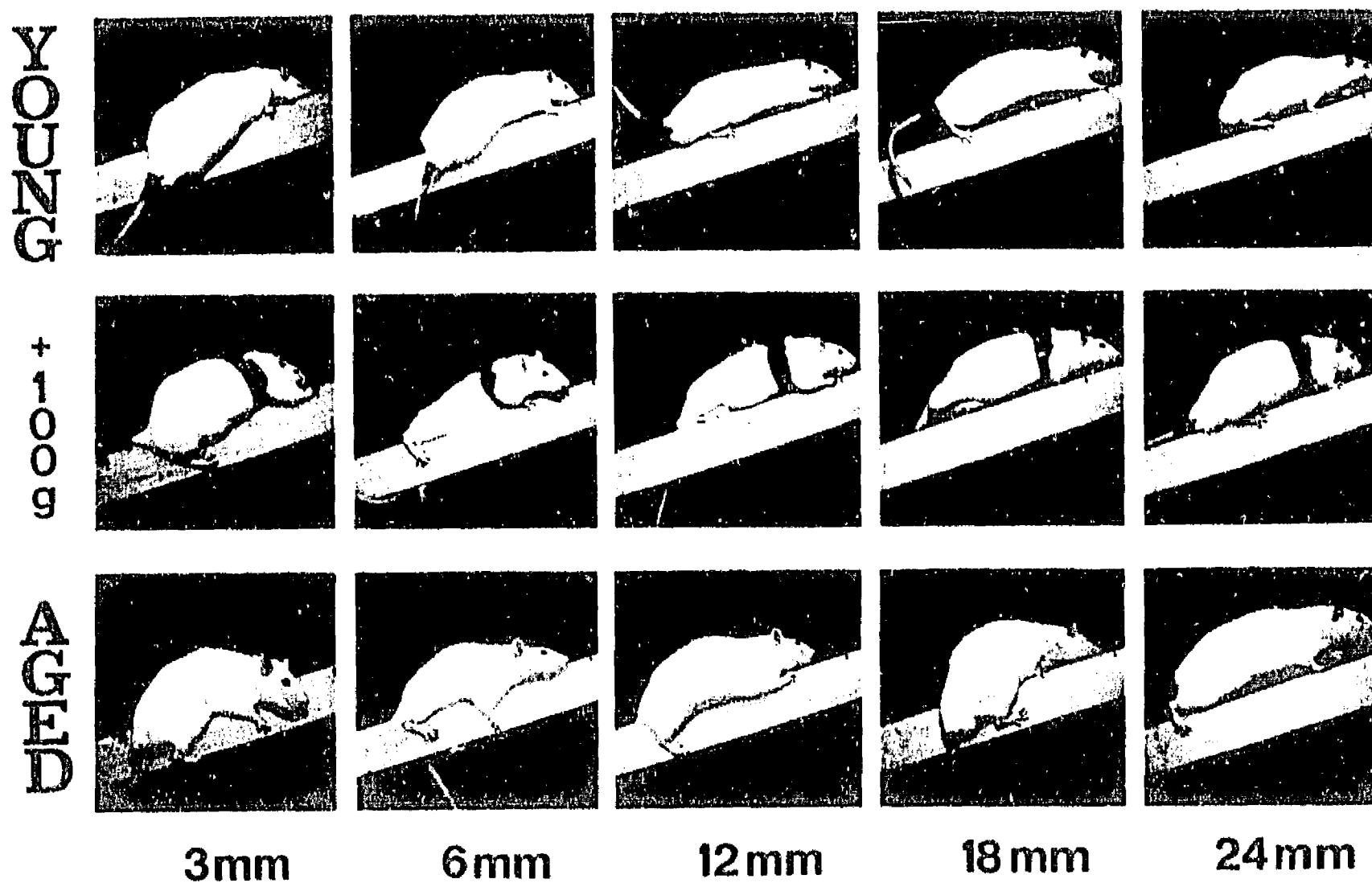


Fig. 3. Side view photographs of a variety of positions rats adopt while traversing the various beam widths. In addition it illustrates a young rat wearing the 100 g lead belt around his body, middle pannel.

employed at the end of which the rat was removed and placed in the cage by hand and received a score of 120 sec. The beam width sequence used in each testing session was determined with a table of random numbers. Pilot studies showed that this manipulation almost completely eliminated practice effects. The measure utilized for each rat was 'total time' to reach the cage. However, during testing rats frequently had episodes of immobility. Accordingly, a second measure was taken designated as 'no movement time'. This measure reflected the amount of time that animals merely stood immobile with what appeared as olfactory and visual exploration of surroundings.

Since young rats were usually about half the weight of old rats, a lead belt weighing 100 g (see Fig. 3) was placed around 10 young rats, in order to determine whether weight was an important factor in the capacity to traverse the beam. The 100 g weight represented an increase of about 40% of the total body weight of the young rats. One week after testing the young and aged rats, pharmacological tests were begun. All young rats were tested on the beam test after the i.p. injection of 0.1 and 0.2 mg/kg of haloperidol (Janssen) while all the aged rats were tested on the beam test following i.p. injection of 1, 2 and 4 mg/kg of (+)-amphetamine sulphate (Sigma) and by oral administration of 50, 100, 200 mg/kg of

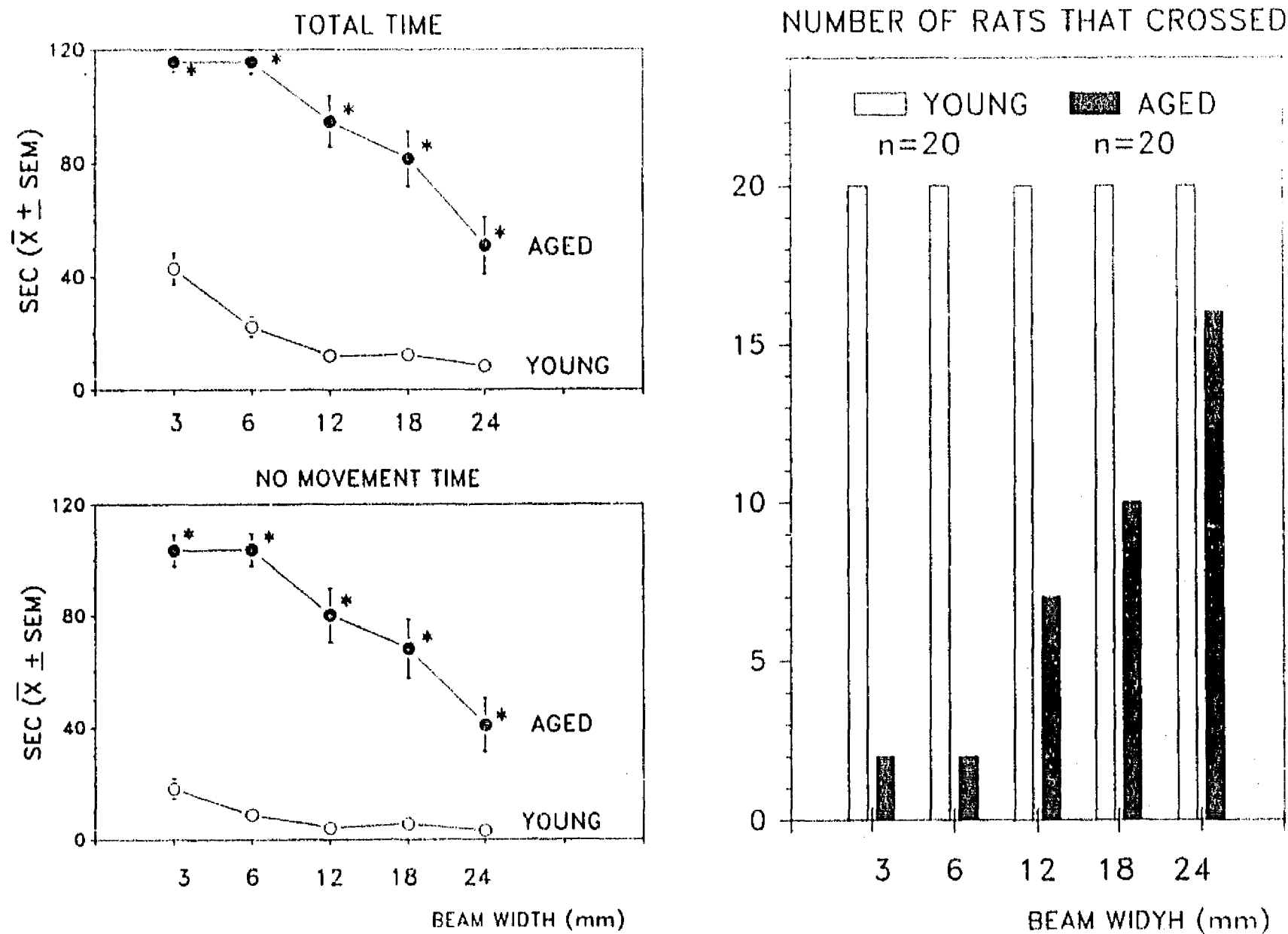


Fig. 4. Illustrates the differences between young and aged rats in total time to traverse the beams and the no-movement time. The bar graph simply compares the number of rats which successfully crossed the various beams. Note that even in the widest beam a few aged rats did not accomplish the crossing within the time limit of 120 sec. * $P < 0.001$ as compared to young rats.

L-Dopa (Sigma). A 1-week interval was allowed between each drug administration.

Statistics

A Friedman test between groups, followed by a Mann-Whitney test to identify differences between groups on each beam width was used to test significances.

Results

Since a comparison between 23–25-month-old vs. 29–34-month-old rats indicated that there were no significant differences, aged rats were analyzed together as a group. Comparison of

performance on the beam test between young and aged rats is illustrated in Fig. 4. While young rats easily crossed the beam quickly, even on the narrowest wood strip, aged rats were unable to cross on the 3 and 6 mm strips and a gradually greater number of animals were able to cross as width increased. It is also evident that the amount of no movement time decreased as beam width increased. Friedman test was significant $P < 0.001$ ($\chi = 87.36$) and the Mann-Whitney showed significant differences $P < 0.001$ on all ramp widths between young and old rats.

When the 20 young rats were divided into 2 groups of 10 and one group was fitted with the lead belt as described in Methods, they still readily crossed the beams even on the narrowest strip.

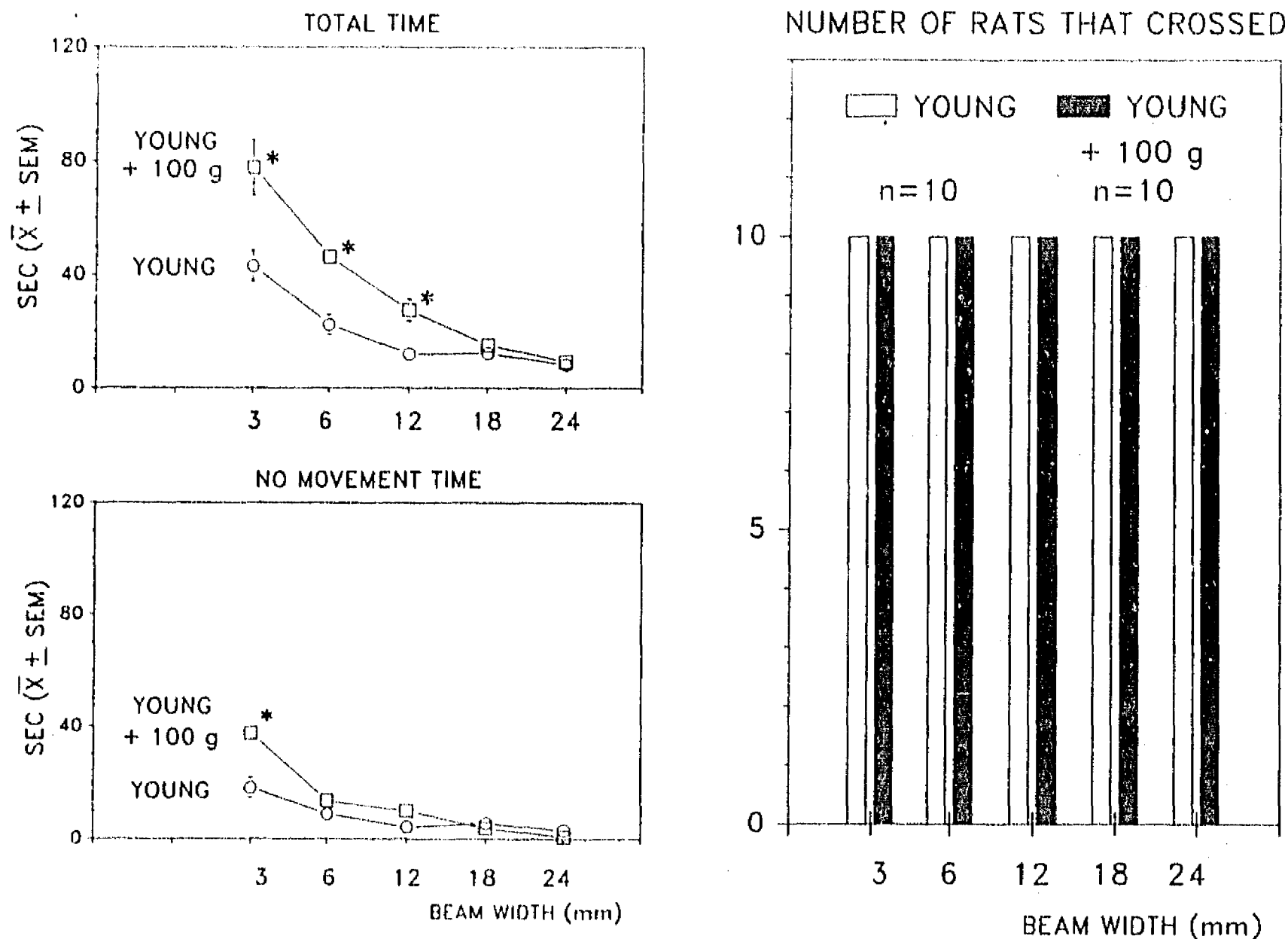


Fig. 5. Illustrates the differences between young rats with and without 100 g lead belts. Although the increased weight slowed the young rats all were all able to cross. * $P < 0.02$ as compared to control.

However, there was a significant total time difference on the 3, 6 and 12 mm width strips ($P < 0.01$), but only on the 3 mm width was no movement time significant ($P < 0.02$) (see Fig. 5).

Following the administration of Haloperidol young rats had great difficulties crossing the beams (Fig. 6). There was a significant difference both with the 0.1 mg/kg dose ($P < 0.001$) ($x = 38.82$) and the 0.2 mg/kg ($P < 0.001$) ($x = 78.22$), for total and no movement time. Also crossing at all beam widths were significantly different in comparisons between young rats with and without

haloperidol ($P < 0.01$), for both total and no movement time.

When testing aged rats with amphetamine, the lowest dose of 1 mg/kg was the most effective ($P < 0.001$) ($x = 17.81$) for improving performance in both total and no movement time. The doses of 2 and 4 mg/kg produced a large variability in the aged rats, mostly because stereotyped movements were elicited which interfered with their capacity to reach the cage. The same overall effect occurred with 1-Dopa administration. Again the lowest dose of 50 mg/kg was most

HALOPERIDOL

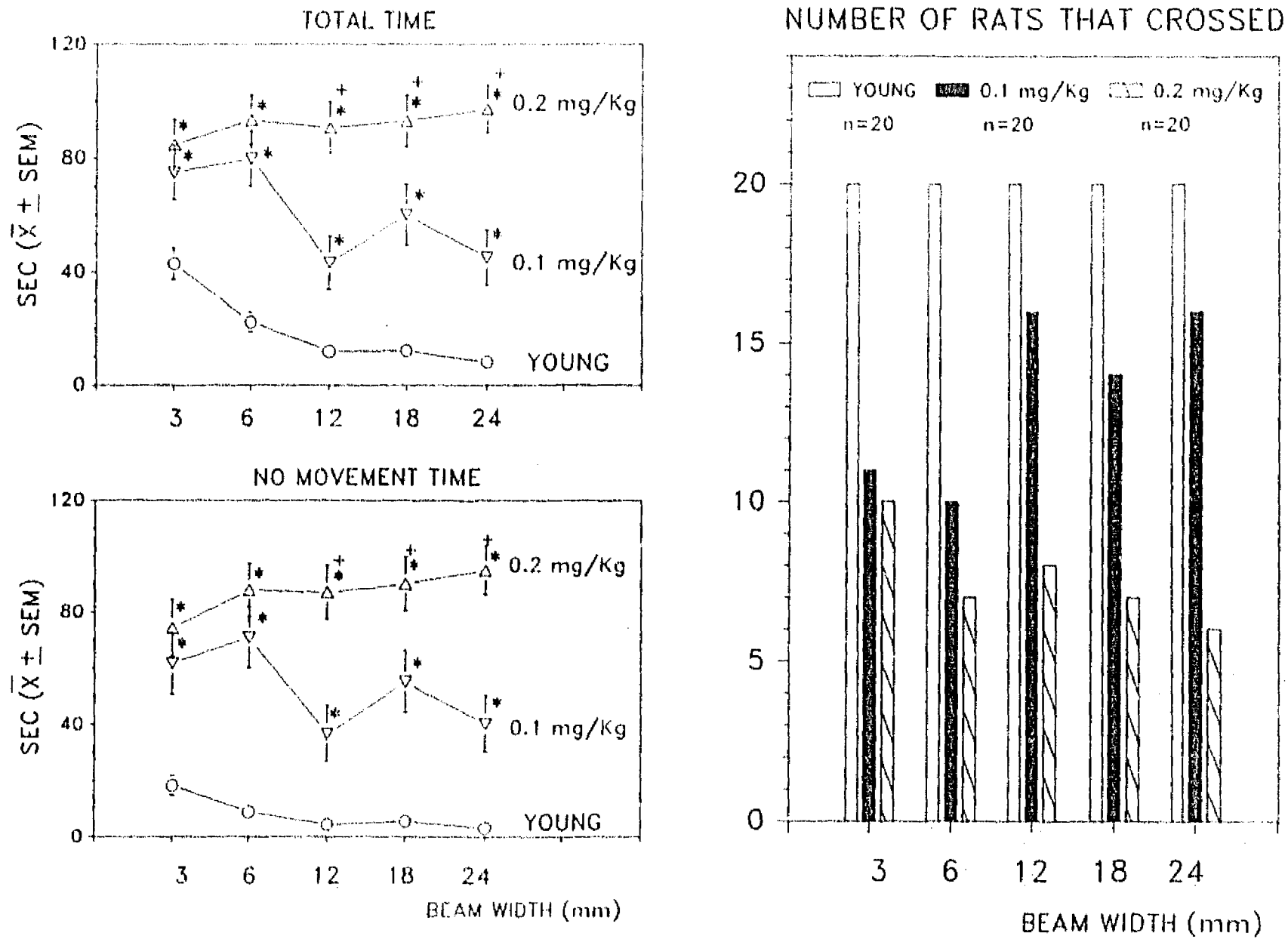


Fig. 6. Illustrates the effects of 2 doses of Haloperidol (0.1 and 0.2 mg/kg). It is evident from this figure that this dopamine receptor antagonist not only slowed the rats significantly in all beam widths, but also rendered many rats incapable of crossing particularly at doses of 0.2 mg/kg. * $P < 0.01$ vs control, + $P < 0.05$ vs. 0.1 mg/kg.

D-AMPHETAMINE

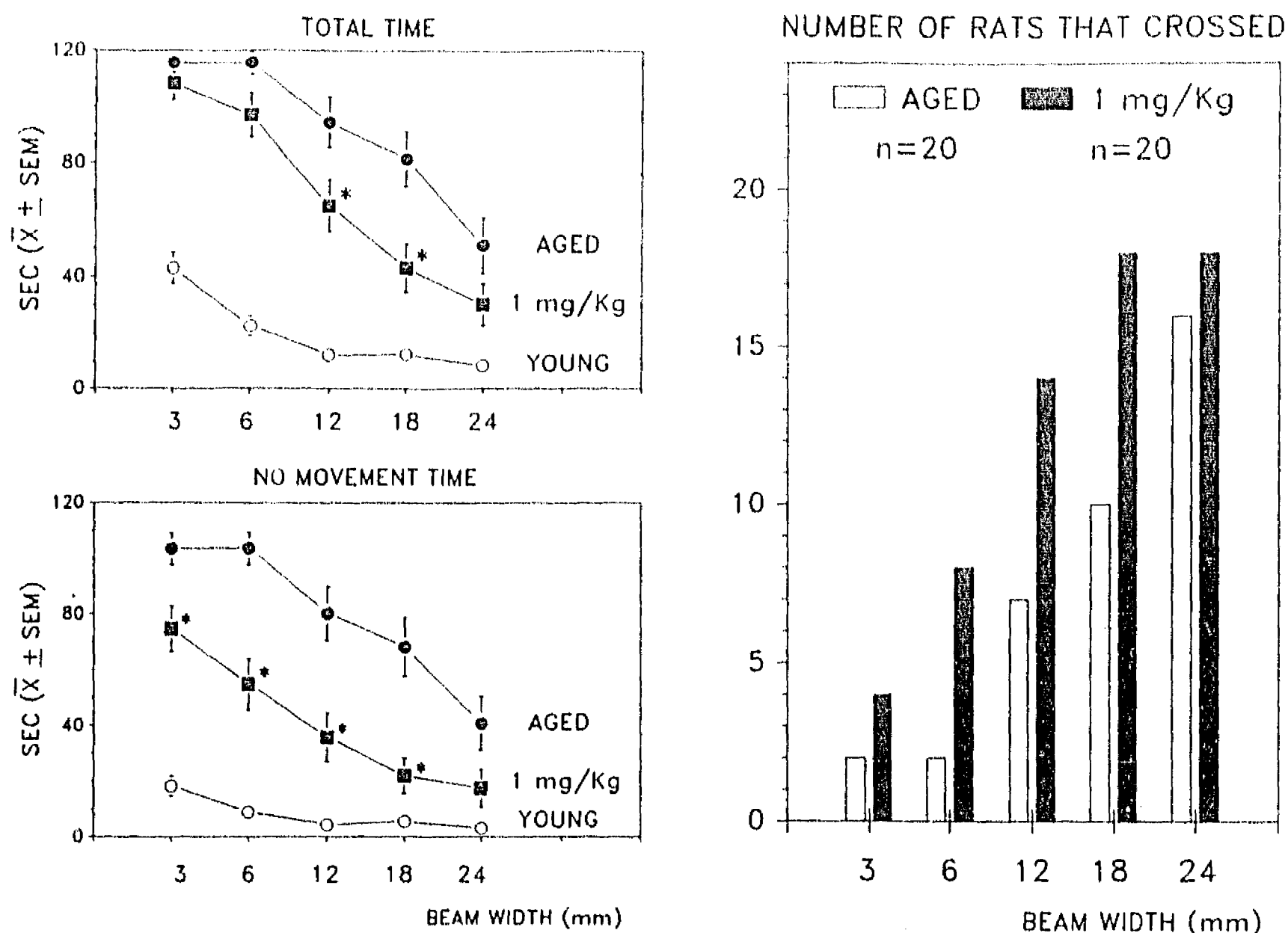


Fig. 7. Illustrates the effects of 1 mg/kg of amphetamine on the performance of aged rats. Total time was improved in all beam widths and significant on the 12 and 18 mm beams (* $P < 0.05$ vs aged) and no-movement time was reduced on all beam widths (* $P < 0.001$ vs aged). Moreover, amphetamine increased considerably the number of aged rats able to cross at all widths.

effective in improving performance ($P < 0.001$) ($x = 19.55$) (see Figs. 7 and 8).

Discussion

The main results of these experiments, show that the test appears to be an effective procedure for detecting motor impairment in aged rats. Furthermore, practice and body weight do not appear to be important variables. Moreover, the test is sensitive to pharmacological manipulation, in terms of the dopaminergic drugs tested. Importantly, this new test seems to be quite sensi-

tive in detecting motor impairment in aged rats, and does not depend on rather subjective scales such as the one used in the swim test devised by Marshall and Berrios (1979). This test has some similarities with tests described by Campbell et al. (1980), such as the rotorod test and the elevated path test. However, none of these tests spontaneously elicit the complex locomotion induced by the present test. The beam test as described here permits rapid measurement of a complex motor ability linked to coordinated movement.

Despite increasing the weight of young rats by 40% all rats crossed even the narrowest beam.

L-DOPA

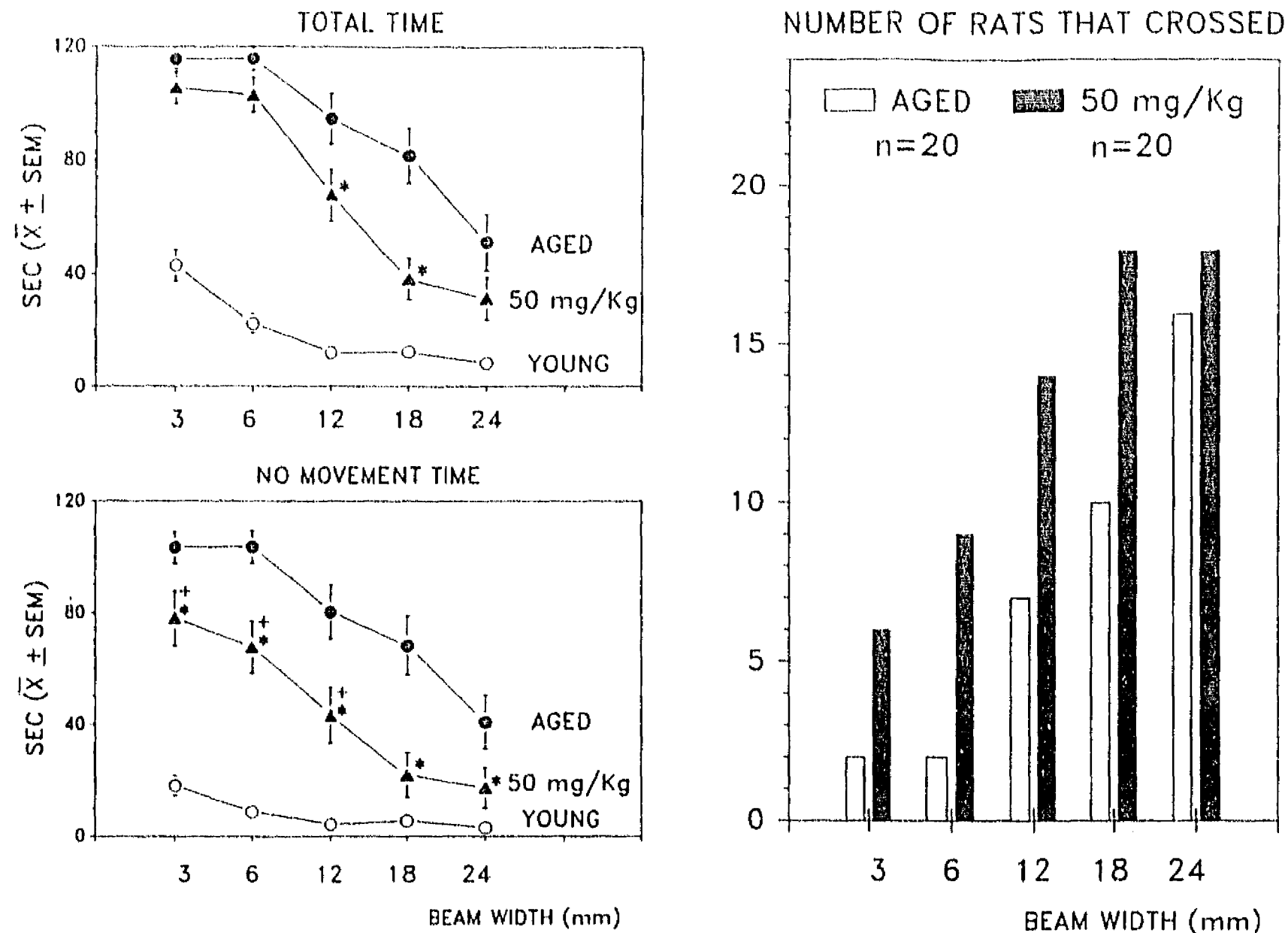


Fig. 8. Illustrates the effects of 50 mg/kg of L-DOPA on the performance of aged rats. Total time was significantly improved on the 12 and 18 mm ramp widths (* $P < 0.05$ vs aged) and no-movement time was reduced on all beam widths (* $P < 0.05$ vs aged) reaching non-significant levels on the 18 and 24 mm beams (* $P < 0.001$ vs young). Additionally, L-DOPA increased the number of old rats crossing at all widths.

The added weight slowed speed, but otherwise had little effect on the motor performance in this test. On the other hand, blocking the DA receptors with Haloperidol not only increased the time in which young rats crossed the beams but also prevented 50-60% of the rats from ever crossing. When doses within the therapeutic range (i.e., 0.1 mg/kg neuroleptics) are administered to experimental animals they induce changes in behavior that have been related to the psychogenic effects of these drugs. Examples include increases in the threshold for electrical brain stimulation reward (Schaefer and Holtzman, 1979; Schaefer and

Michael, 1980), reduction in exploratory behavior in the open field (Schaefer and Michael, 1984), and alterations in latent inhibition (Weiner and Feldon, 1987). These observations have generally been considered supportive of a role for dopamine in hedonic or motivation processes (Wise, 1982). Such interpretations however, represent inferences from motor behavior. The striking motor dysfunction induced by 0.1 mg/kg haloperidol in the present study demonstrates that even low doses of haloperidol can markedly impair motor function, even though the animals locomotion in the cage appear normal. These findings appear to

invalidate arguments which purport that low dosed neuroleptic behavioral effects are non motoric (Wise, 1982). These results indicate the importance of striatal motor functions for performance in this test. Conversely, drugs such as amphetamine and L-Dopa which increase dopaminergic neurotransmission in the striatum (Fuxe and Ungerstedt, 1970; Wooten, 1990; Quinn, 1990) improved the performance of a great number of aged rats. Again, these pharmacological results point to the sensitivity of this test to nigro-striatal functions. Overall, the test seems to be a powerful indicator of age-related disturbances of motor capability. Furthermore, this test is sensitive to nigro-striatal function and is amenable to be used in pharmacological and transplant studies. These findings suggest that this behavioral test may provide an effective model for quantitating age-related motor disturbances, as well as for assessing the effects of pharmacological treatments and tissue grafts in nigro-striatal disorders.

Acknowledgements

This work was supported in part by FIRESIN and Fideicomiso UNAM. We wish to thank Jesús Méndez-Franco for his technical assistance and Mrs. Teresa Torres-Peralta for typing the manuscript.

References

- Bjorklund, A., Dunnett, S.B., Stenevi, U., Lewis, M.E. and Iversen, S.D. (1980) Reinnervation of the denervated striatum by substantia nigra transplants: Functional consequences as revealed by pharmacological and sensorimotor testing. *Brain Res.*, 199: 307-333.
- Bugiani, O.S., Salvarini, F., Perdeffi, G., Mancardi, L. and Leonardi, A. (1978) Nerve cell loss with aging in the putamen. *Eur. Neurol.*, 17: 286-291.
- Campbell, B.A., Krauter, E.E. and Wallace, J.E. (1980) Animal models of aging: Sensory motor and cognitive function in the aged rat. In D.G. Stein (Ed.), *The Psychobiology of Aging: Problems and Perspectives*, Elsevier/North-Holland, Amsterdam, pp. 201-226.
- Dean, R.L., Scozzafava, J., Goas, J.A., Regan, B., Beer, B. and Bartus, R.T. (1981) Age-related differences in behavior across the life span of the C57BL/65 mouse. *Exp. Aging Res.*, 7: 427-451.
- Dunnett, S.B. and Richards, S.J. (1990) Neural transplantation from molecular basis to clinical applications. *Progress in Brain Research*, Vol. 82, Elsevier, Amsterdam, 743 pp.
- Finch, C.E., Randall, P.K. and Marshall, J.F. (1981) Aging and basal ganglia functions. *Annu. Rev. Gerontol. Geriat.*, 2: 47-49.
- Fuxe, K. and Ungerstedt, U. (1970) Histochemical, biochemical and functional studies on central dopamine neurons after acute and chronic amphetamine administration. In: E. Costa and S. Garattini (Eds.), *Amphetamines and Related Compounds*, Raven, New York, pp. 257-288.
- Joseph, J.A., Bartus, R.T., Clody, D., Morgan, D., Finch, C., Beer, B. and Sesack, S. (1983) Psychomotor performance in the senescent rodent: reduction of deficits via striatal dopamine receptor up-regulation. *Neurobiol. Aging.*, 4: 313-319.
- Marshall, J.F. and Berrios, N. (1979) Movement disorders of aged rats: reversal by dopamine receptor stimulation. *Science*, 206: 477-479.
- Perlow, M.J., Freed, W.J., Hoffer, J.B., Seiger, A., Olson, L. and Wyatt, R.J. (1979) Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Science*, 204: 643-646.
- Quinn, N.P. (1990) Levodopa-based therapy. In: W.C. Koller and G. Paviour (Eds.), *Therapy of Parkinson's Disease*, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 169-203.
- Schaefer, G.J. and Holtzman, S.G. (1979) Free-operant and autotitration brain self-stimulation procedures in the rat: a comparison of drug-effects. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 10: 127-135.
- Schaefer, G.J. and Michael, R.P. (1980) Acute effects of neuroleptics on brain self-stimulation thresholds in rats. *Psychopharmacology*, 67: 9-15.
- Schaefer, G.J. and Michael, R.P. (1984) Drug interactions on spontaneous locomotor activity in rats. *Neuropharmacology*, 23: 909-914.
- Severson, J.A., Marcusson, J., Winblad, B. and Finch, C.E. (1982) Age-correlated loss of dopaminergic sites in human basal ganglia. *J. Neurochem.*, 39: 1623-1632.
- Strong, R.P., Hicks, L., Hsu, R., Bartus, T. and Enna, J. (1980) Age-related alterations in the rodent brain cholinergic system and behavior. *Neurobiol. Aging*, 1: 59-63.
- Ungerstedt, U. (1971a) Striatal dopamine release after amphetamine or nerve degeneration revealed by rotational behavior. *Acta Physiol. Scand. (Suppl.)*, 367: 49-93.
- Ungerstedt, U. (1971b) Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol. Scand. (Suppl.)*, 367: 95-121.
- Weiner, I. and Feldon, J. (1987) Facilitation of latent inhibition by haloperidol in rats. *Psychopharmacology*, 91: 248-253.
- Wise, R.A. (1982) Neuroleptics and operant behavior: the anhedonia hypothesis. *Behav. Brain Sci.*, 5: 39-53.
- Wooten, G.F. (1990) Biochemical basis for levodopa therapy. In W.C. Koller and G. Paulson (Eds.), *Therapy of Parkinson's Disease*, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 161-168.

Reduction of Motor Impairment by Adrenal Medulla Transplants in Aged Rats

FERNANDO GARCÍA-HERNÁNDEZ,* MARÍA TRINIDAD PACHECO-CANO*†
AND RENÉ DRUCKER-COLÍN*¹

*Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. and †Unidad de Investigación Biomédica Básica, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.

GARCÍA-HERNÁNDEZ, F., M. T. PACHECO-CANO AND R. DRUCKER-COLÍN. *Reduction of motor impairment by adrenal medulla transplants in aged rats.* PHYSIOL. BEHAV. 54(3) 589-598, 1993.—Recently we have reported that drugs that enhance dopaminergic transmission, such as L-dopa and D-amphetamine, substantially improve the age-related deterioration of extrapyramidal motor functions, as assessed by the narrow uphill beam test. Here we report the effect of fetal adrenal medullary transplants upon the motor performance of aged rats in such a test. Rats were grafted with 300,000 cultured adrenal medullary cells, placed into the head of either the left caudate nucleus, or into both caudates. A third group was grafted with one freshly dissected adrenal medulla placed as a block of tissue into the lateral ventricle, whereas the control group sustained sham grafting. Evaluation of the motor performance of cultured and sham-grafted rats showed no improvement along the testing phase. Only adrenal block-grafted rats exhibited a significant recovery of motor coordination. Histologically, cultured cell grafts had a deteriorated appearance with poor survival rates, while block grafts exhibited chromaffin cells with round and neuron-like shapes. The results suggest that cultured adrenal grafts may not induce motor improvement due to their extremely low survival and poor integration, at least in the aged host brain, while fresh adrenal transplants may improve motor coordination for as long as 84 days.

Aging Motor impairment Adrenal medulla Transplants L-Dopa

IT is generally acknowledged that the aging process comprises the gradual degeneration of the nervous system, involving a profound decline in motor and cognitive capabilities associated with advancing age. Diverse morphological, neurochemical, and physiological alterations in the basal ganglia have been documented to account for the age-related deterioration of extrapyramidal motor capabilities (6,7,24,31,32). Furthermore, age-related deficits in extrapyramidal motor functions have been associated with an impaired dopaminergic transmission in humans and experimental animals, comparable to that observed in Parkinson's disease (4,12,23,25). Tests developed to assess the motor capabilities of experimental old animals exhibit numerous methodological deficiencies and so pharmacological agents that enhance dopaminergic function have shown minimal success in improving their motor performance (18,22). Recently, we have reported that the narrow uphill beam test is highly sensitive to motor aging and dopaminergic function, where low doses of L-dopa or D-amphetamine substantially reduced the motor impairments of the aged rats (10).

Since the motor deficits of aged rats are in fact reduced by drugs that enhance dopaminergic transmission, we decided to test whether more long-lasting functional effects can be achieved through adrenal medullary transplants.

METHOD

Study groups were made from 20 aged rats with a mean age of 25.4 ± 1.6 months, ranging from 24 to 27 months, and mean weight of 566.9 ± 82.5 g at the beginning of the experiments. A group of 10 young rats (3 months old, weighing 222.8 ± 21 g) was used for comparison purposes. All animals were maintained in a temperature-controlled room, with a 12-h light-dark cycle and free access to food and water.

Motor Coordination Evaluation

All animals were tested once in the narrow uphill beam test (10), before transplantation. Briefly, rats had to climb over 2-m long wood beams of 3, 6, 12, 18, and 24 mm widths. The total time employed by the animals to reach their home cage at the end of each beam was recorded. In addition, the no-movement time and the number of rats able to cross the beams was registered. Aged animals were then divided according to the transplantation procedure employed, either cultured cell or block grafts.

Tissue Culture

Our tissue culture methods have been reported elsewhere (28). Briefly, 40 to 50 adrenal glands per culture were obtained from 17-day pregnant rats. The glands were carefully freed from

¹Requests for reprints should be addressed to René Drucker-Colín, Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-600, México, D.F.

UNILATERAL CULTURED TRANSPLANT

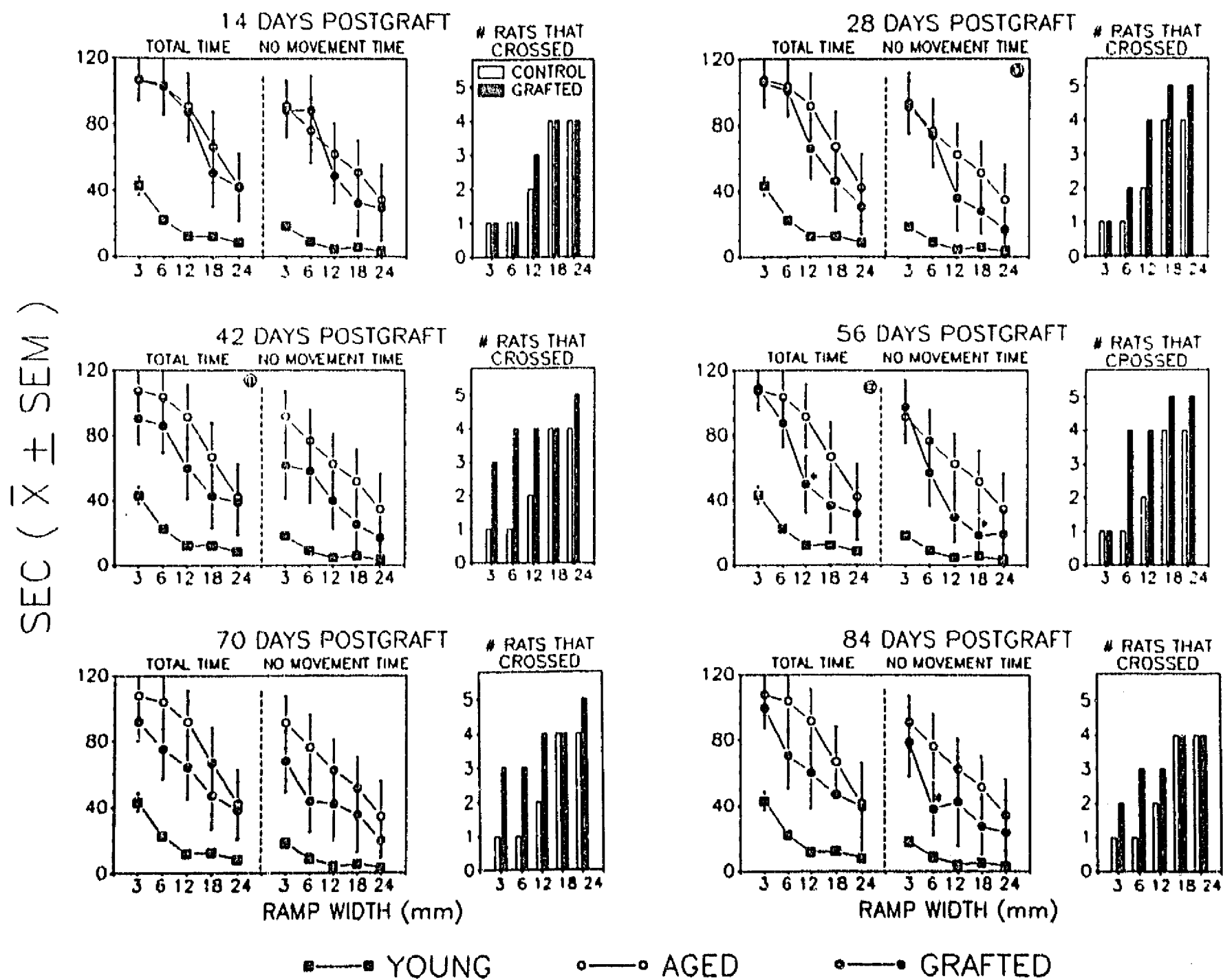


FIG. 1. Effect of cultured adrenal medullary cells grafted unilaterally into the head of the left caudate nucleus, over the motor performance of aged rats. ○ Aged rats control evaluations were recorded once before transplantation. ● Grafted rats were evaluated every 14 days after transplantation. ■ Young rats' performance was introduced for comparison purposes. Although grafted rats showed a tendency to reduce both total and no-movement time scores in all beam widths and increase the number of rats able to cross the beams, Friedman's test ($p < 0.05$) and Wilcoxon test ($*p < 0.05$) revealed differences only at some points.

adhering cortical tissue and the medullary tissue was then gently agitated at 37°C for 20 min in calcium-free spinner salt solution (SSS) supplemented with 1 mg/ml bovine serum albumin and containing 2 mg/ml collagenase and $15\ \mu\text{g/ml}$ DNAase. The digested tissue was then dispersed by mechanical pipetting, washed once with SSS + DNAase ($15\ \mu\text{g/ml}$) and twice in with SSS alone, pelleting the cells between washes by centrifugation at $100 \times g$ for 10 min. Cells were then resuspended in Dulbecco minimum essential medium (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum, $250\ \mu\text{M}$ ascorbic acid, $4.5\ \mu\text{g/ml}$ insulin, $200\ \text{mM}$ glutamine, penicillin ($100\ \text{U/ml}$)-streptomycin ($100\ \mu\text{g/ml}$), and $1\ \mu\text{g/ml}$ fungizone and seeded in 12-multiwell culture dishes. After 5 days in culture, several chromaffin cells were observed growing over a bed of fibroblasts. At this time cells were detached for transplantation with $0.3\ \text{mg/ml}$ trypsin in SSS under visual examination, washed, and all cells able to expel

trypan blue dye were counted. Cells were aliquoted in DMEM and maintained in the tissue culture incubator until required for grafting (30 min to 3 h). Part of the cultured cells were fixed at this point for immunocytochemical analysis.

Grafting Procedures

Group A ($n = 5$). Aged rats received cultured adrenal medullary cells grafted unilaterally into the head of the left caudate parenchyma by stereotaxic surgery under deep fluothane gas anesthesia. Two injections of 150,000 cells each to render a total of 300,000 cells per graft were made, with the aid of a glass transparent micropipet (diameter $< 100\ \mu\text{m}$) over a 5-min period using DMEM as vehicle. Both injections were separated 1 mm from one another in the lateral plane, at coordinates AP: 1.0, LM: -2.0 , -3.0 , and DV: -4.0 .

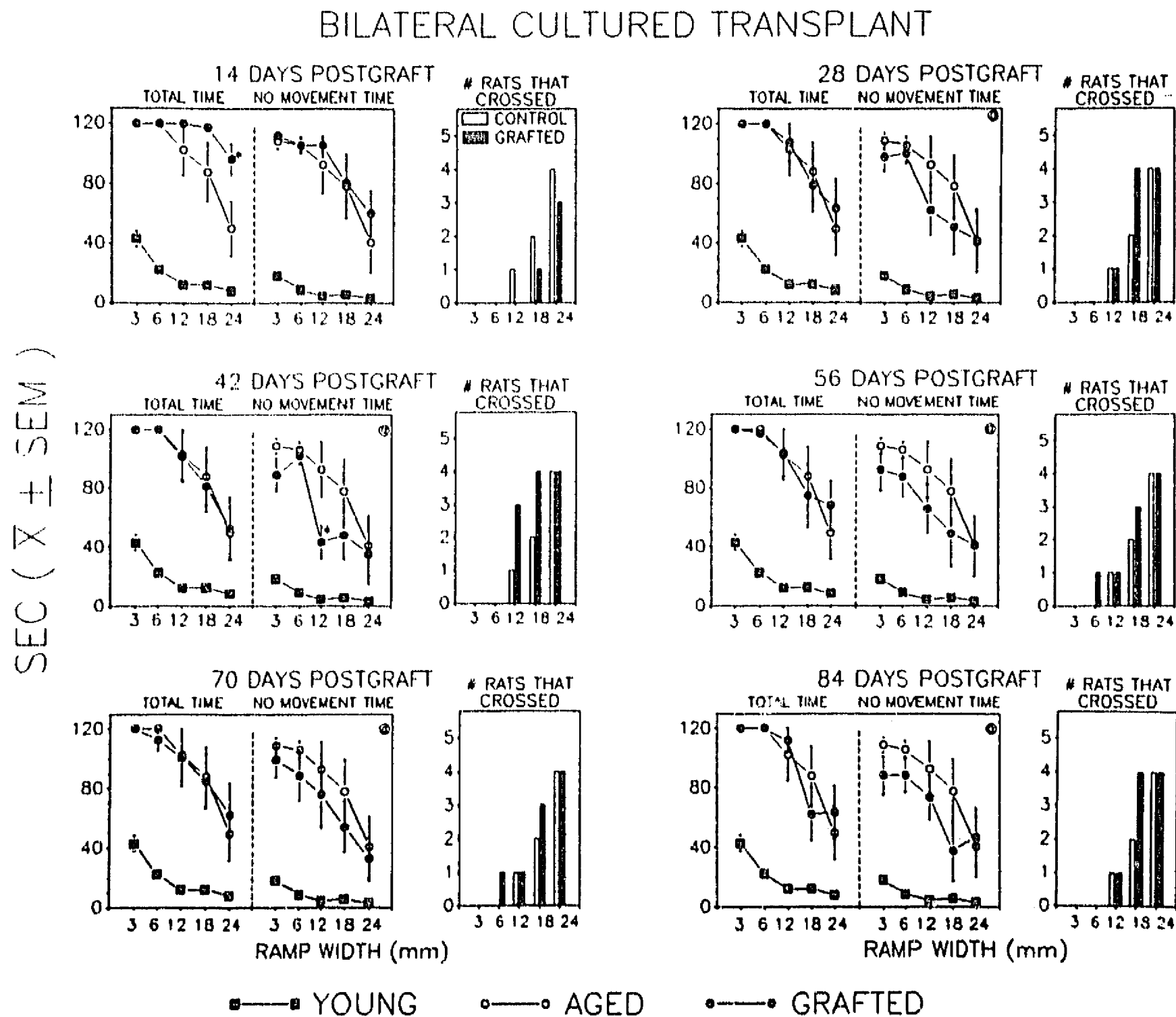


FIG. 2. Illustrates the effect of cultured adrenal medullary cells grafted bilaterally into the head of both caudate nuclei. Postgraft total time values and the number of rats able to cross the beams remained unchanged throughout the testing sessions. No-movement time values after transplantation were lower than control values: Friedman's $ap < 0.05$; still, Wilcoxon test revealed differences only in two points ($*p < 0.05$).

Group B ($n = 5$). Rats received cultured adrenal medullary cells grafted bilaterally into the parenchyma of both caudate nuclei, employing the same procedure as in group A.

Group C ($n = 5$). Rats were transplanted with one freshly dissected adrenal medulla placed as a block of tissue into the left lateral ventricle in close contact with the head of the caudate nucleus, using DMEM as vehicle at coordinates AP: -0.6 , ML: -1.2 , and DV: -3.6 .

Group D ($n = 5$). Aged rats were used as control. Since three different grafting approaches were employed in this study, control rats were only anesthetized and placed in the stereotaxic instrument for the performance of an incision of the skin and a craniotomy in the same area as in the grafted rats. After surgery all animals were returned to their home cages. The motor performance of the transplanted rats was tested again in the narrow uphill beam test, every 14 days after surgery for as long as 84 days (3 months; six evaluations).

Histological Analysis

At the end of the last testing session, all animals were sacrificed to perform tyrosine hydroxylase (TH), fibronectin, and glial fibrillary acidic protein (GFAP) immunocytochemistry. Briefly, rats were deeply anesthetized with an overdose of sodium pentobarbital and perfused intracardially with isotonic saline solution followed by 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer. Brains were postfixed for 90 min in the same fixative, immersed in 10%, 20%, and 30% sucrose at 4°C , and sliced into $40\text{-}\mu\text{m}$ coronal sections with a manually driven cryostat. Serial sections throughout the caudate nuclei, where the grafted tissue was located, were kept. Also, sections of the substantia nigra of each animal were obtained. Alternate sections were incubated overnight in TH (1:500 from Eugene Teck Int.), fibronectin (1:2000 from E&Y Labs.), and GFAP (1:200 from Incstar) primary antibodies, followed by the ABC method (Vector Labs.)

ADRENAL MEDULLA TRANSPLANT

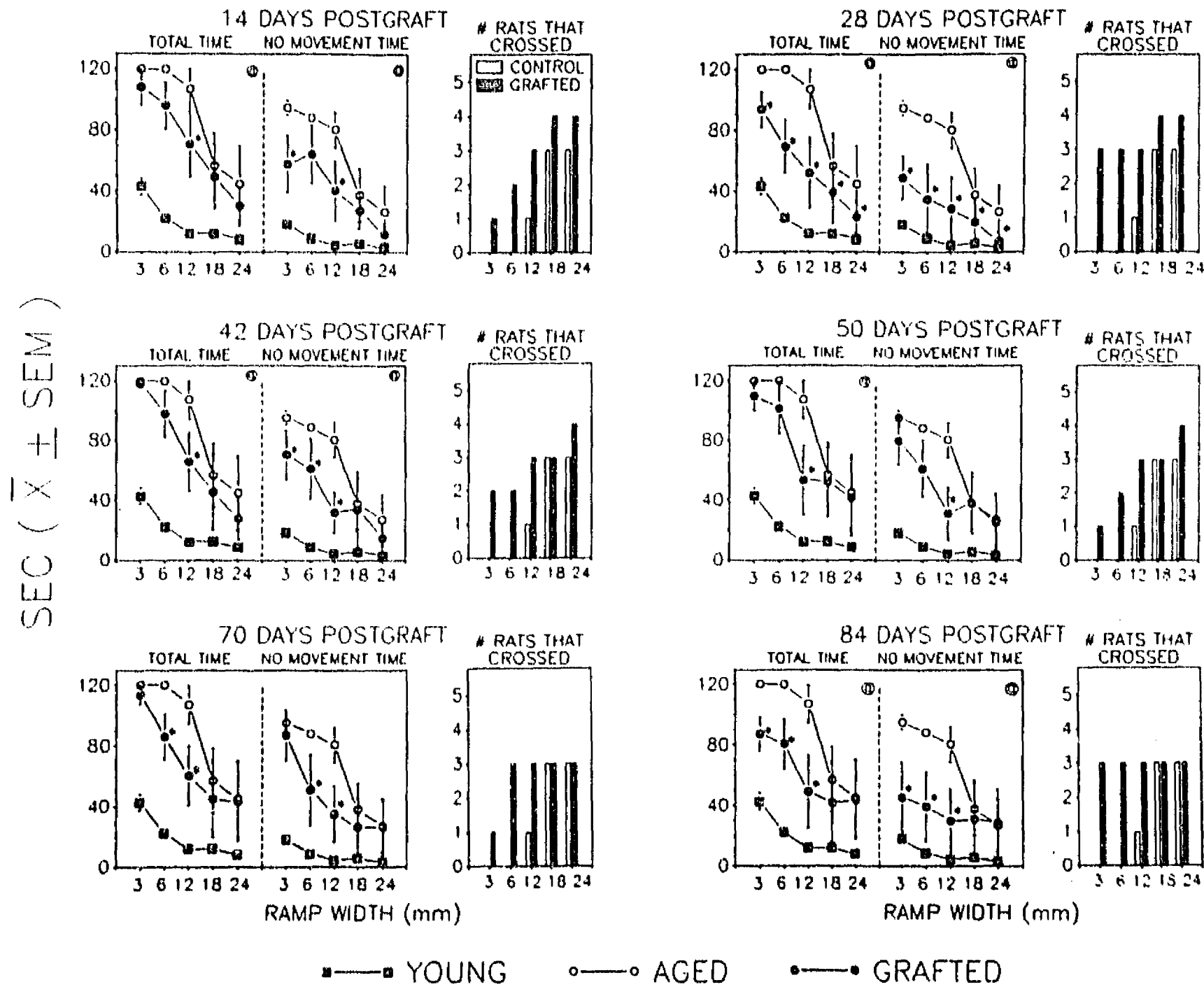


FIG. 3. Represents the effect of one adrenal medulla transplanted as a block of tissue into the lateral ventricle. As soon as 14 days after grafting, total time and no-movement time scores were reduced, reaching peak levels 28 and 84 days after transplantation and attaining statistical significance in most curves and points ($@p < 0.05$, $*p < 0.05$).

using 3,3-diaminobenzidine DAB (Sigma Chemicals) as chromogen.

Data Analysis

A Friedman test between groups, followed by a Wilcoxon signed ranks test to identify differences between groups on each beam, were used to test significance.

RESULTS

Motor Coordination Evaluations

Before transplantation, aged rats were severely impaired with respect to the young controls in all three measures of the narrow uphill beam test. The total time and no-movement time employed by aged rats to cross the beams was significantly larger than that employed by young rats, confirming our previous observations (10). No statistical differences in either body weight

or motor performance were found between aged experimental groups.

Rats bearing unilateral cultured transplants exhibited a notable reduction of total and no-movement time beginning by day 42 after grafting, which was sustained throughout the testing interval. Regardless of this improvement, Friedman's statistical examination revealed significant differences only in three curves, while Wilcoxon test showed sparse significant differences between beam widths. However, this transplantation approach increased the number of rats able to cross all beams beginning at day 28 after grafting (Fig. 1). Bilateral cultured transplants failed to reduce the motor impairment of the aged rats. Total time values were never reduced from control values in all the testing sessions. Although no-movement time values showed a certain tendency to decrease, and Friedman's test exhibited statistical significance beginning at 28 days after grafting, statistical differences between beams were rare and the number of rats able to cross showed no change (Fig. 2).

SHAM TRANSPLANT

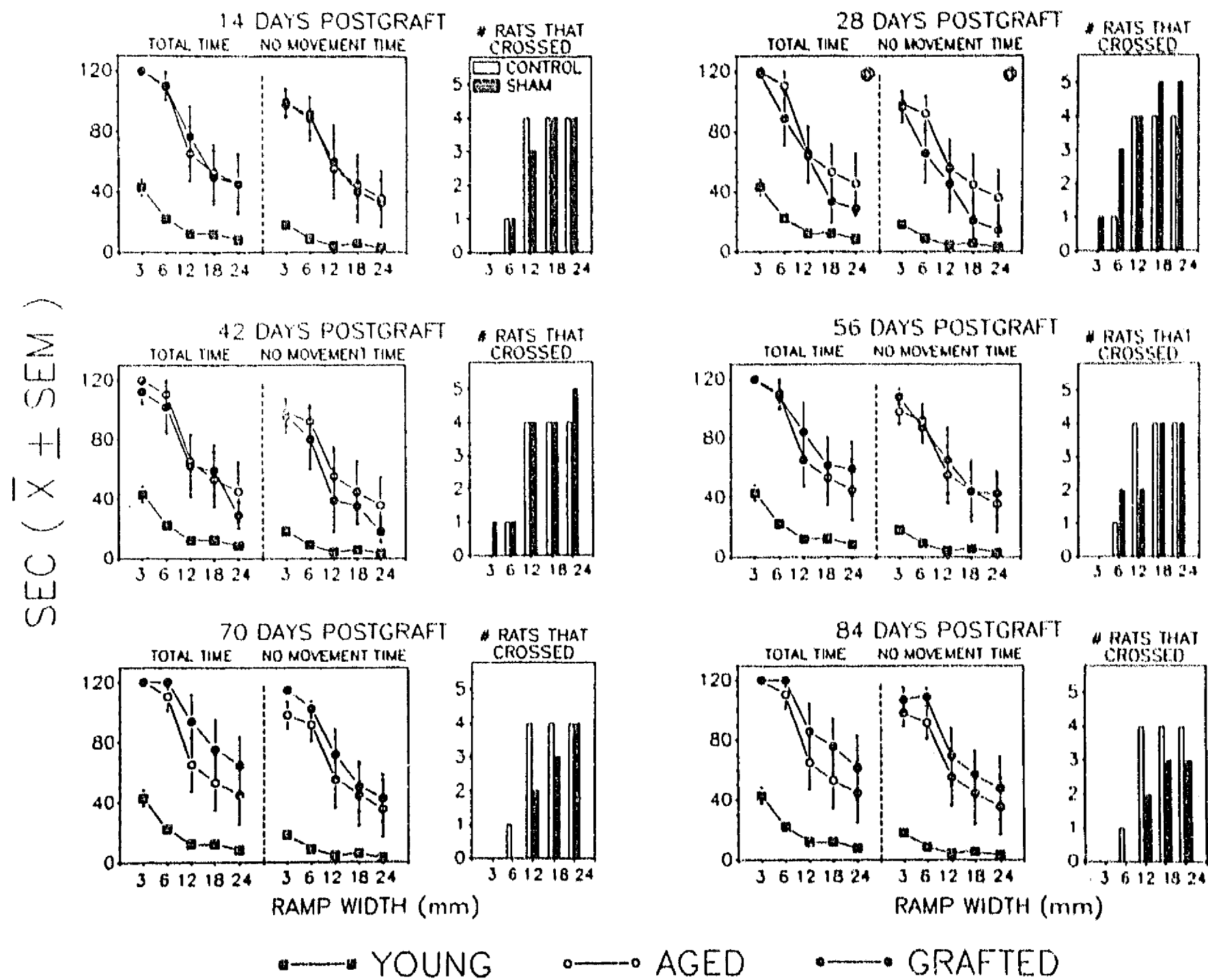


FIG. 4. Illustrates the effect of sham transplantation over the motor impairment of aged rats. In all cases postsurgery values remained drastically close to control values. At 70 and 84 days after transplantation, sham graft values overlapped control scores and the number of rats that crossed was diminished.

Adrenal medullary block transplants into the lateral ventricle exhibited a notable capability to improve aged rats' motor deficits. Total time and no-movement time values showed a clear reduction, attaining statistical significance as soon as 14 days after transplantation. Although motor improvement was evident, there were certain fluctuations, most obvious 28 and 84 days after grafting. On the other hand, the number of rats able to cross the beams increased consistently over the testing span (Fig. 3). To establish the efficiency of adrenal medullary block grafts, motor impairment percent reduction of the grafted rats was estimated and compared against L-dopa values from our previous studies. The results showed that both L-dopa and adrenal medullary grafts substantially diminished the motor impairment of the aged rats. The observed effect was beam width dependent. While L-dopa reduced the motor deficits more efficiently as beam widths increased, adrenal transplants exhibited a drastic effect in the narrowest beams, where higher motor coordination is

required, but abruptly dropped in the wider beams. In accordance, adrenal grafts showed to be more effective than L-dopa in the 6- and 12-mm beams, while in the 18- and 24-mm beams L-dopa proved to be more active (Fig. 5). Sham transplantation exhibited no changes over the aged rats' motor impairment. Total time and no-movement time values kept close to control values, but by day 70 and 84 after grafting, testing values raised over control values. Again, the number of rats able to cross over the beams sustained no changes, but by day 70 and 84 after grafting less rats were able to cross (Fig. 4).

Histology

Some morphological alterations, like cellular loss in certain brain areas, dilatation of the cerebral ventricles, and pituitary tumors, were found in three of the grafted rats. Histological examination of TH-immunostained sections showed that cultured

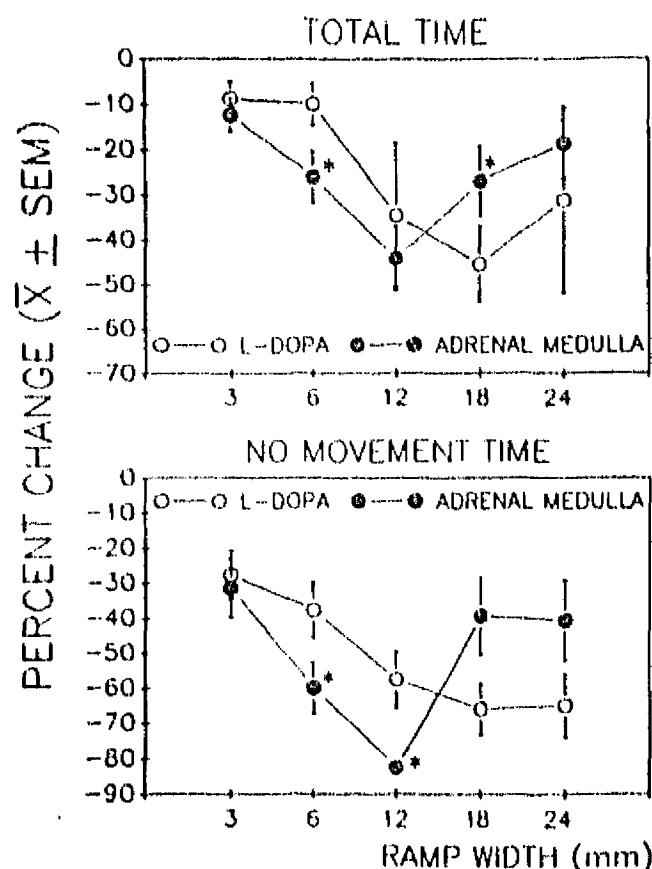


FIG. 5. Represents the comparison of aged rats' motor impairment percent reduction induced by L-dopa (○) and adrenal medulla block grafts (●) (* $p < 0.05$) (see text).

cell grafts were confined to the injection tracts inside the caudate nucleus parenchyma (Figs. 6, 7). These grafts had poor survival rates, with multiple infiltrating macrophages. Only a few chromaffin cells could be identified dispersed inside the injection tracts. These observations were confirmed by Nissl staining. On the other hand, block transplants into the lateral ventricle were found anchored to the corpus callosum and exhibited a healthy appearance. Several chromaffin cells with round and neuron-like shapes confined to the grafted tissue were found (Fig. 8). However, no axons growing away from the graft into the host tissue were observed, although a TH-immunoreactive band surrounding the transplant was observed. Staining intensity differences were studied and found when comparing young vs. aged brain caudate, substantia nigra, locus coeruleus, and ventral hypothalamus; still, no clear pattern could be established.

To identify the fibroblasts present in our tissue cultures, fibronectin immunocytochemistry was performed. Cultured cell grafts exhibited a moderate fibronectin immunostaining along the injection tracts (Figs. 6, 7), while block transplants showed a prominent reaction exposing a dense matrix within the implant, confirming the presence of fibroblasts (Fig. 8). Again, a fibronectin-immunoreactive band was observed around the graft, overlapping the TH band. The GFAP immunostaining revealed numerous reacting cells around and even inside cultured cell transplants (Figs. 6, 7). Block transplants exhibited abundant reacting astrocytes in the corpus callosum surrounding the transplant (Fig. 8). Tyrosine hydroxylase and fibronectin immunocytochemical analysis of the cultures used for transplantation revealed the presence of multiple chromaffin cells growing over a confluent bed of fibroblasts.

DISCUSSION

The easily detectable motor impairment exhibited by the aged rats corroborates our previous observations about the sensitivity

and reliability of the narrow uphill beam test. Moreover, sham-grafted rats' motor impairment showed no spontaneous reduction along the testing period, suggesting that the test is not subject to practice improvement over extended periods of time. Assuming that age-related anomalies in the extrapyramidal motor system affect both hemispheres, we decided to perform bilateral transplants, expecting that this should ameliorate motor deficits more efficiently. The deteriorated appearance of the grafted tissue, as well as the poor survival rates of chromaffin cells, may account for the lack of motor improvement of the aged rats bearing cultured cell transplants. Parallel results have also been reported in nonhuman primates (3,15,19) and patients with Parkinson's disease who received adrenal medulla to caudate autotransplant (16,17,30,34). The survival conditions for our cultured adrenal grafts were particularly adverse, since peri- and intraventricular transplants grow better than those placed in the central parenchyma of the caudate (26). Furthermore, cell suspension transplants into the parenchyma of the caudate nucleus exhibit poor viability, since at least 95% of the grafted tissue is lost during its manipulation and placement into the brain (14,29,33). Moreover, the procedure used to detach the cultured cells from their substrate may have drastically damaged the chromaffin cells, making their proportion within the graft very low. An insufficient amount of grafted cultured cells could explain the null integration of the grafted tissue into the host aged brain and the lack of motor improvement, suggesting that higher quantities may be required.

Adrenal medullary block transplants into the lateral ventricle were the only ones readily capable of reducing the motor impairment of aged rats, exhibiting good survival and integration into the host brain. Similar results employing other motor tests have been reported for intrastriatal nigral transplants (13). By the end of the testing period, 84 days after grafting, TH immunocytochemistry revealed the existence of several chromaffin cells inside the medullary block transplants, although the identity of these cells may require DBH, PNMT, or chromogranin A immunocytochemical confirmation. These putative chromaffin cells sustained phenotypic changes, acquiring neuronal-like shapes, suggesting the possible existence of some trophic-like interactions. This is, to our knowledge, the first report of such observation in the aged brain, although it has been previously reported in the adult brain (27). Since nonlesioned aged rats were employed in this study, and sham-transplanted rats did not receive control tissue grafts, the possibility that the remaining nigrostriatal neurons could sprout or upregulate in response to mechanical damage of the host brain cannot be excluded. Indeed, numerous reports have consistently described the existence of sprouting TH-immunoreactive fibers surrounding adrenal medullary transplants in MPTP-treated mice (5,8), primates (11,15,19), and Parkinson patients (16,20), although this sprouting phenomenon seems to be limited in the aged brain (9). The TH-immunoreactive band invading the corpus callosum adjacent to the transplanted tissue suggests the possible sprouting of host fibers. Additionally, in some cases, unusual robust fibers were observed surrounding the ventricle and extending into the transplant (see Fig. 8); still, there were no evidences that these fibers were of graft origin. However, the fibronectin-immunoreactive band completely overlapped the TH band. Previous reports from this laboratory have shown that the dopaminergic neurons of the substantia nigra of old Wistar rats exhibit electrophysiological alterations that may be partially restored by adrenal medullary transplants into the lateral ventricle (21). This effect of the grafted tissue over the host nigrostriatal neurons may account, in part, for the motor improvement observed in our grafted rats. Our findings agree with reports made about the suitable viability of fetal cell grafts into

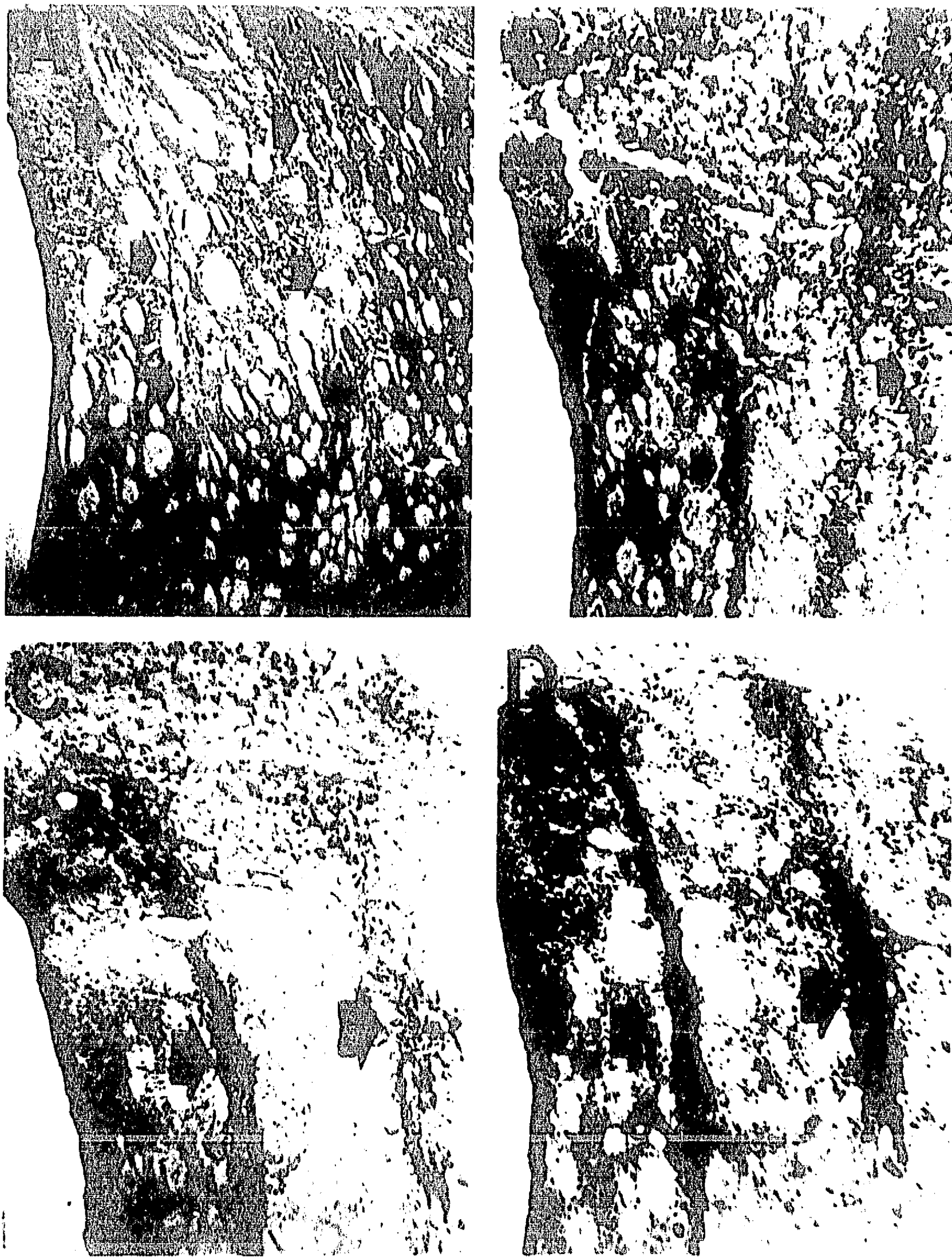


FIG. 6. Low magnification (3.2 \times) microphotographs of caudate sections showing the appearance of unilateral cultured cell grafts. Both injection tracts (arrows) were easily detected with (A) tyrosine hydroxylase, (B) fibronectin, and (C) GFAP immunostaining, and (D) Nissl staining. Inside the injection scar only few grafted cells were found with infiltrating macrophages and reactive astrocytes.

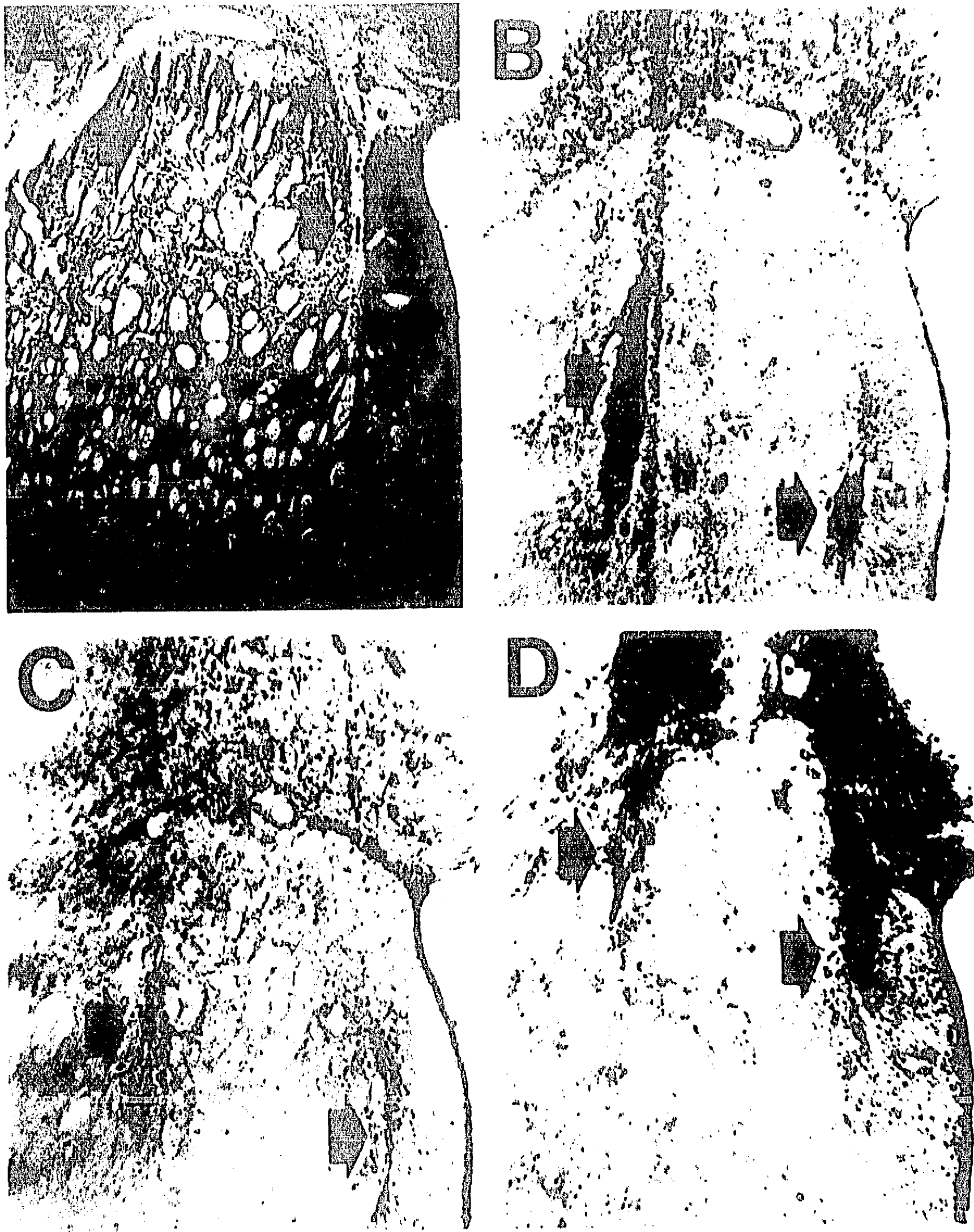


FIG. 7. Low magnification (3.2 \times) microphotographs of caudate sections showing the appearance of bilateral cultured cell grafts. The injection tracts (arrows) were detected on both caudates although only one side is shown. (A) Tyrosine hydroxylase, (B) fibronectin, and (C) GFAP immunostaining, and (D) Nissl staining. Once again few grafted cells were found confined to the injection scar.

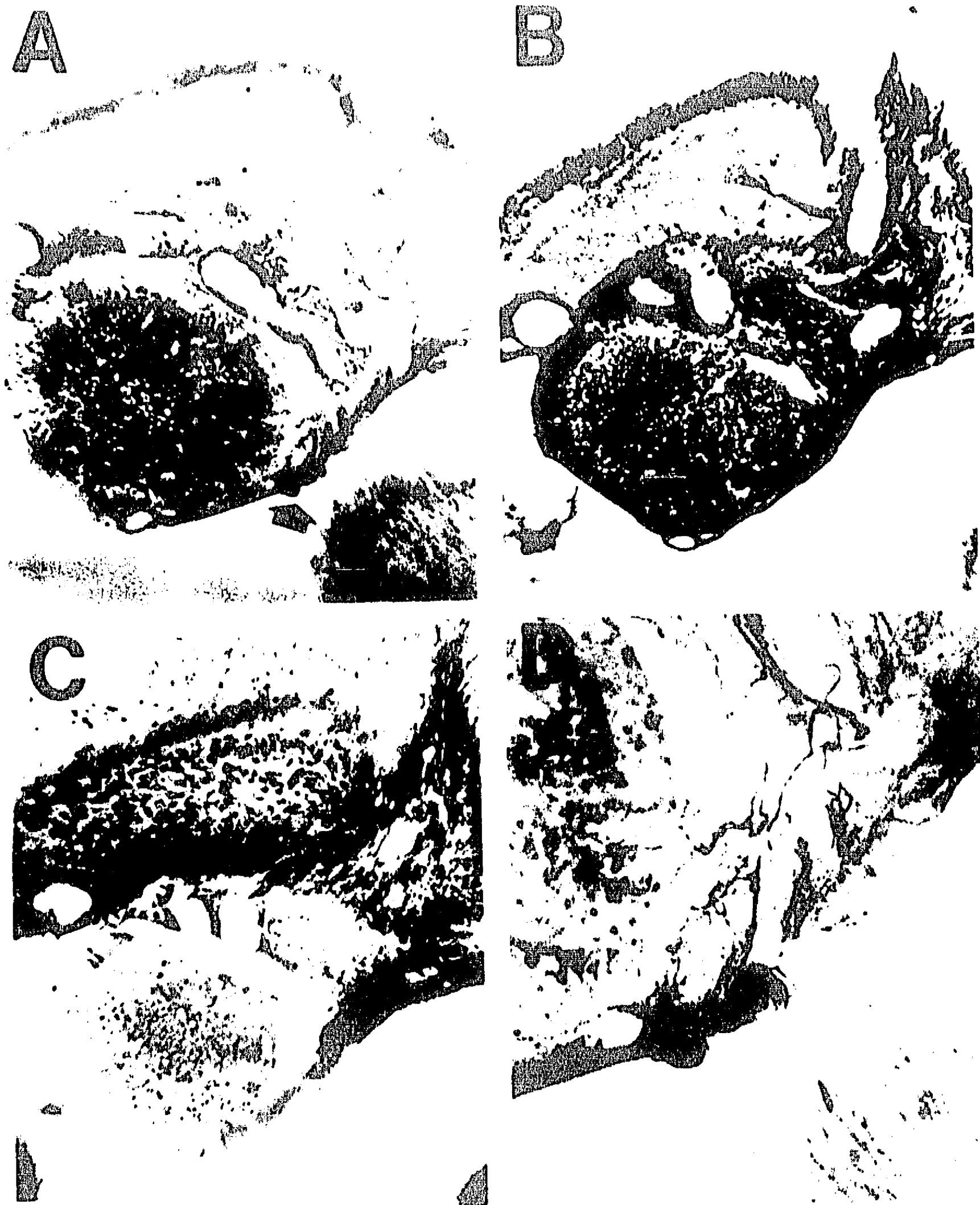


FIG. 8. Low magnification (3.2 \times) microphotographs of adrenal medullary block transplants into the lateral ventricle. Tyrosine hydroxylase immunostaining (A) revealed chromaffin cells with neuron-like shapes (arrow); fibronectin immunostaining (B) revealed a dense matrix within the implant; GFAP immunostaining (C) exhibited multiple reactive astrocytes in the corpus callosum surrounding the implant. (D) is a magnification (10 \times) of the chromaffin cells shown in (A).

the aged brain (1,2), although these findings may not apply for cultured cell grafts. Whether block transplants improved the motor coordination by replacing the lost striatal dopamine or by inducing the recovery of host dopaminergic system is unknown; our current data appear to support the latter.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported in part by FHRESIN and Fideicomiso UNAM. We wish thank Mr. Jesus Méndez-Franco and Mr. Juan Lopez-Magaña for their technical assistance, and Mrs. Teresa Torres-Peralta for typing the manuscript.

REFERENCES

- Azmitia, E. C.; Perlow, M. J.; Brennan, M. J.; Lauder, J. M. Fetal raphe and hippocampal transplants into adult and aged C57BL/6N mice: A preliminary immunocytochemical study. *Brain Res. Bull.* 7:703-710; 1981.
- Azmitia, E. C. A serotonin-hippocampal model indicates adult neurons survive transplantation and aged target may be deficient in a soluble serotonergic growth factor. In: Azmitia, E. C.; Bjorklund, A., eds. *Cell and tissue transplantation into the adult brain*. Ann. NY Acad. Sci. 1987:362-377.
- Bankiewicz, K. S.; Plunkett, R. J.; Kopin, I. J.; Jacobowitz, D. M.; London, W. T.; Oldfield, E. H. Transient behavioral recovery in hemiparkinsonian primates after adrenal medullary allografts. *Prog. Brain Res.* 78:543-549; 1988.
- Barbeau, A. Aging and the extrapyramidal system. *J. Am. Geriatr. Soc.* 21:145-149; 1973.
- Bohn, M. C.; Cupit, L.; Marciano, F.; Gash, D. M. Adrenal medulla grafts enhance recovery of striatal dopaminergic fibers. *Science* 237:913-916; 1987.
- Bugiani, O. S.; Salvarini, F.; Perdelli, L.; Leonardi, A. Nerve cell loss with aging in the putamen. *Eur. Neurol.* 17:286-291; 1978.
- Cepeda, C.; Walsh, J. P.; Hull, C. D.; Buchwald, N. A.; Levine, M. S. Intracellular neurophysiology analysis reveals alterations in excitation in striatal neurons in aged rats. *Brain Res.* 495:215-226; 1989.
- Date, I.; Felten, S. Y.; Felten, D. L. Cografts of adrenal medulla with peripheral nerve enhance the survivability of transplanted adrenal chromaffin cells and recovery of the host nigrostriatal dopaminergic system in MPTP-treated young adult mice. *Brain Res.* 537:33-39; 1990.
- Date, I.; Felten, S. Y.; Olschowka, J. A.; Felten, D. L. Limited recovery of striatal dopaminergic fibers by adrenal medullary grafts in MPTP-treated aging mice. *Exp. Neurol.* 107:197-207; 1990.
- Drucker-Colín, R.; García-Hernández, F. A new motor test sensitive to aging and dopaminergic function. *J. Neurosci. Methods* 39:153-161; 1991.
- Fiandaca, M. S.; Kordower, J. H.; Hansen, J. T.; Jiao, S. S.; Gash, D. M. Adrenal medullary autografts into the basal ganglia of cebus monkeys: Injury-induced regeneration. *Exp. Neurol.* 102:76-91; 1988.
- Finch, C. E.; Randal, M. J.; Marshal, J. F. Aging and basal ganglia functions. *Annu. Rev. Gerontol. Geriatr.* 2:47-49; 1981.
- Gage, F. H.; Dunnett, S. B.; Stenevi, U.; Bjorklund, A. Aged rats: Recovery of motor impairments by intrastriatal nigral grafts. *Science* 221:966-968; 1983.
- García-Hernández, F.; Drucker-Colín, R.; Azmitia, E. C. Free radical scavengers and calcium channel blockers increase adrenal medulla transplants volume in the 6-OHDA lesioned caudate nucleus. *J. Neural Transp. Plast.* (submitted).
- Hansen, J. T.; Kordower, J. H.; Fiandaca, M. S.; Jiao, S. S.; Notter, M. F.; Gash, D. M. Adrenal medullary autografts into the basal ganglia of cebus monkeys: Graft viability and fine structure. *Exp. Neurol.* 102:65-75; 1988.
- Hirsch, E. C.; Duyckaerts, C.; Javoy-Agid, F.; Hauw, J. J.; Agid, Y. Does adrenal graft enhance recovery of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 27:676-682; 1990.
- Jankovic, J.; Grossman, R.; Goodman, C.; et al. Clinical, biochemical, and neuropathological findings following transplantation of adrenal medulla to caudate nucleus for the treatment of Parkinson's disease. *Neurology* 39:1227-1234; 1989.
- Joseph, J. A.; Filburn, C.; Tzankoff, S. P.; Thompson, J.; Engel, B. T. Age-related neostriatal alterations in the rat: Failure of L-dopa to alter behavior. *Neurobiol. Aging* 1:119-126; 1980.
- Kordower, J. H.; Fiandaca, M. S.; Notter, M. F. D.; Hansen, T. H.; Gash, D. M. NGF-like trophic support from peripheral nerve for grafted rhesus adrenal chromaffin cells. *J. Neurosurg.* 73:418-428; 1990.
- Kordower, J. H.; Cochran, E.; Penn, R. D.; Goetz, C. G. Putative chromaffin cell survival and enhanced host-derived th-fiber innervation following a functional adrenal medulla autograft for Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 29:405-412; 1991.
- Lavín, M. A.; Drucker-Colín, R. Ontogeny of the electrophysiological activity of dopaminergic cells with reference to the influence of adrenal medullary grafts on aging. *Brain Res.* 547:164-170; 1991.
- Marshal, J. F.; Berrios, N. Movement disorders of aged rats: Reversal by dopamine receptor stimulation. *Science* 206:477-479; 1979.
- McGeer, P. L.; McGeer, E. G.; Suzuki, J. S. Aging and extrapyramidal function. *Arch. Neurol.* 34:33-35; 1977.
- Morelli, M.; Mennini, T.; Cagnotto, A.; Toffano, G.; DiChiara, G. Quantitative autoradiographical analysis of the age-related modulation of central dopamine D₁ and D₂ receptors. *Neuroscience* 36:403-410; 1990.
- Mortimer, J. A.; Webster, D. Comparison of extrapyramidal motor function in normal aging and Parkinson's disease. In: Mortimer, J. A.; Pirozzola, F. J.; Maletta, G. J., eds. *The aging motor system*. New York: Praeger; 1982:217-241.
- Nishino, H.; Ono, T.; Takahashi, J.; Kimura, M.; Shiosaka, S.; Tohyama, M. Transplants in the peri- and intraventricular region grow better than those in the central parenchyma of the caudate. *Neurosci. Lett.* 64:184-190; 1986.
- Nishino, H.; Ono, T.; Shibata, R.; Kawamata, S.; Watanabe, H.; Shiosaka, S.; Tohyama, M.; Karadi, Z. Adrenal medullary cells transmute into dopaminergic neurons in the dopamine-depleted rat caudate and ameliorate motor disturbances. *Brain Res.* 445:325-337; 1988.
- Pacheco-Cano, M. T.; García-Hernández, F.; Hiriart, M.; Komisaruk, B. R.; Drucker-Colín, R. Dibutyryl cAMP stimulates analgesia in rats bearing a ventricular adrenal medulla transplant. *Brain Res.* 531:290-293; 1990.
- Patel-Vaidya, U.; Wells, M. R.; Freed, W. J. Survival of dissociated adrenal chromaffin cells of rat and monkey transplanted into rat brain. *Cell Tissue Res.* 240:281-285; 1985.
- Peterson, D. I.; Lynne Price, M.; Small, C. S. Autopsy findings in a patient who had adrenal to brain transplant for Parkinson's disease. *Neurology* 39:235-238; 1989.
- Rinne, O. J.; Lonnberg, P.; Marjamaki, P. Age-dependent decline in human brain dopamine D₁ and D₂ receptors. *Brain Res.* 508:349-352; 1990.
- Severson, J. A.; Marcussdon, J.; Winbland, B.; Finch, C. E. Age-correlated loss of dopaminergic sites in human basal ganglia. *J. Neurochem.* 39:1623-1632; 1982.
- Stromberg, I.; Herrera-Marschitz, M.; Ungerstedt, U.; Ebendal, T.; Olson, L. Chronic implants of chromaffin tissue into dopamine-denervated striatum. Effects of NGF on graft survival, fiber growth and rotational behavior. *Exp. Brain Res.* 60:335-349; 1985.
- Waters, C.; Itabashi, H. H.; Apuzzo, M. L. J.; Weiner, L. P. Adrenal to caudate transplantation-postmortem study. *Mov. Disord.* 5:248-250; 1990.

DISCUSION

La profunda pérdida de las capacidades motoras y la rigurosa dependencia de la edad, son dos características que comparten el proceso de envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas que afectan a los ganglios basales. La similitud entre las alteraciones observadas en los ganglios basales tanto de pacientes afectados por la enfermedad de Parkinson como de sujetos de edad avanzada, sugieren que la enfermedad de Parkinson podría ser considerada como la expresión de un envejecimiento prematuro y acelerado del sistema dopaminérgico nigro-estriatal (Barbeau, 1973; McGeer y cols., 1977; Mortimer, 1988).

Aunque en el humano la pérdida de las funciones motoras es fácilmente detectable, cuando se analizan los factores específicos que contribuyen a las diferencias individuales observadas entre sujetos, se encuentran múltiples problemas que posiblemente puedan ser superados al estudiar cepas de roedores genéticamente homogéneos y criados en condiciones controladas.

La evaluación de las capacidades motoras en animales viejos se basa fuertemente en estudios realizados en roedores experimentales incluyendo: ratas (Wallace y cols., 1980, Campbell y cols., 1980), ratones (Dean y cols., 1981) y hamsters (Ottenweller y cols., 1986), e incluso existen estudios comparativos entre distintas cepas de la misma especie (Goodrick, 1975; Ingram y cols., 1981; Reis, 1983; Sprott y Eleftheriou, 1974). Sin embargo, desde hace más de una

década se reconoce que la interpretación de las deficiencias motoras observadas en animales viejos suele ser controvertida y confusa (Ingram, 1983; 1988; Ingram y Reynolds, 1986). Esta controversia se origina a) por la ambigüedad de los criterios de "lo que debe ser medido y cómo debe ser medido" como alteraciones propias del envejecimiento, b) a las diferencias en las habilidades motoras entre animales de la misma edad, c) pero sobre todo a la confiabilidad de los métodos que validan las mediciones realizadas.

La dificultad para evaluar confiablemente las deficiencias motoras en animales viejos se ve reflejada en la amplia variedad de pruebas diseñadas con este propósito. A continuación se presenta una relación de las pruebas más comúnmente utilizadas para evaluar las deficiencias motoras en animales viejos.

Aunado a las dificultades metodológicas que la evaluación de las deficiencias motoras en animales viejos presenta, frecuentemente las pruebas preexistentes han sido modificadas ó bien se han desarrollado nuevas pruebas dependiendo de los criterios y necesidades metodológicas de los estudios. Mas aún, algunas pruebas son tan poco confiables (nado, actividad espontánea) que aunque varios autores utilicen la misma prueba, las alteraciones reportadas en los animales viejos son contradictorias entre los grupos de investigadores (Marshall y Berrior, 1979; Salas y Lorenzana, 1980, 1983; Gage y cols., 1983b; Altar y Marshal, 1988; Ingram, 1981, 1988; Janicke y cols., 1988; Sprott, 1988; Joseph y cols., 1988).

ACTIVIDAD EXPLORATORIA	Prueba diseñada para evaluar la actividad locomotora espontánea, exploración y habituación a un medio cerrado o abierto.	Sprott, 1974. Dean, 1981. Gage, 1983b. Janicke, 1983. Jellestad, 1986. Ingram, 1983; 1986 Stoessl, 1989.
MOVIMIENTO ESTEREOTIPADO	Evaluación de conductas como aseo, bostezo, lamer, estornudo y girar.	Smith, 1980. Stoessl, 1989. Ottenwelle 1986.
CORRER EN UNA RUEDA	Prueba diseñada para evaluar la actividad locomotora global.	Ingram, 1981; 1983 1984a,b; 1988. Stoessl, 1989.
REFLEJO PRENSIL	Capacidad del animal para sujetarse con los miembros anteriores y mantenerse colgado de un cable horizontal. Diseñada para evaluar la fuerza muscular.	Altman, 1975. Miquel, 1978. Campbell, 1980. Wallace, 1980. Dean, 1981. Gage, 1983b. Ottenwelle 1986. Ingram, 1984a,b. Janicke, 1988. Stoessl, 1989.
TRACCION	Capacidad del animal para sujetarse con los miembros posteriores mientras cuelga con los miembros anteriores de un cable horizontal. Prueba diseñada para evaluar equilibrio, fuerza muscular y tono muscular.	Altman, 1975. Campbell, 1980. Wallace, 1980. Dean, 1981. Stoessl, 1989.
FUERZA DE AGARRE	Fuerza del animal al jalar con las miembros anteriores	Ingram, 1981; 1983 1984a,b; 1988.
PANTALLA INCLINADA	Capacidad del animal para no resbalar de una pantalla de alambre inclinada 60 grados. Diseñada para evaluar el tono muscular.	Lippa, 1979. Dean, 1981. Ottenwelle 1986. Janicke, 1988. Joseph, 1988.
ASCENSO O DESCENSO EN UNA PANTALLA INCLINADA	Coordinación del animal para escalar o bajar en una pantalla de alambre inclinada 45 grados.	Ottenwelle 1986. Janicke, 1988.

PRUEBA DE CHIMENEA	Coordinación del animal para descender de un pilar de 60 cm de altura, rodeado de una malla de alambre.	Campbell, 1980. Wallace, 1980. Ottenwelle 1986. Janicke, 1988.
CONDUCTA DE NADO	Prueba diseñada para la evaluación de la coordinación motora a través del vigor y éxito de nado de animales forzados a nadar por 15 minutos.	Marshall, 1979. Salas, 1980, 1983 Ingram, 1981. Gage, 1983. Yu, 1985. Altar, 1988. Janicke, 1988.
PUENTE ELEVADO	Ejecución y tiempo requerido para que el animal caiga o alcance una plataforma al colocarlo sobre un puente angosto.	Campbell, 1980. Gage, 1983b. Brailowsky, 1986 Ottenwelle 1986. Stoessl, 1989.
PUENTE REDONDO	Tiempo requerido para que el animal caiga o alcance una plataforma al colocarlo sobre un puente redondo estático o en movimiento. Prueba diseñada para evaluar coordinación motora	Campbell, 1980. Dean, 1981. Gage, 1983b. Ottenwelle 1986. Ingram, 1988. Janicke, 1988. Stoessl, 1986.

A su vez, es sumamente importante tener en cuenta el que en repetidas ocasiones se ha reportado que el desempeño motor de los animales viejos en algunas de las pruebas descritas, puede estar sujeto al mejoramiento por efecto de la práctica (McCafferty y Edington, 1974; Ingram y cols., 1982; Samorajski y cols., 1985; McDonald y cols., 1986), o bien los cambios en la masa corporal pueden influir en el desempeño motor de los animales viejos enlenteciéndolos (Welford, 1982, 1984).

Es igualmente importante considerar cuál es el curso temporal de la pérdida de las capacidades motoras en animales viejos. Campbell y colaboradores (1980) y Janike y colaboradores (1988), han establecido que de acuerdo a la edad cronológica de los animales estudiados y al tipo de prueba utilizada, se pueden observar distintos rangos con los que las capacidades motoras declinan (ver figura 3 del texto).

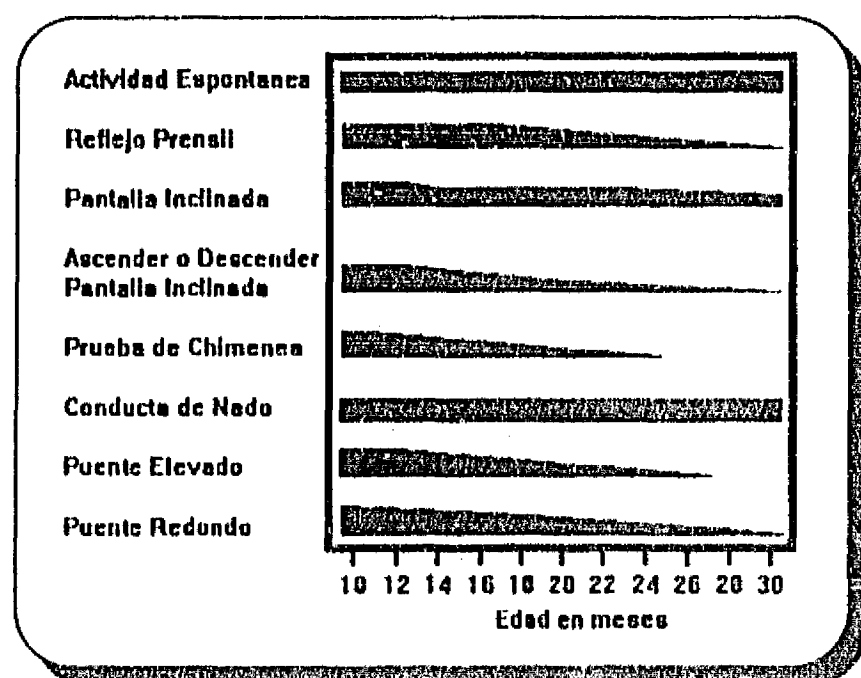


Figura 3. Curso temporal de la pérdida de las capacidades motoras en roedores viejos comparado con el desempeño de animales jóvenes de acuerdo al tipo de prueba utilizada. (Modificado de Campbell y cols., 1980 y Janike y cols., 1988).

Tomando en consideración los factores antes expuestos, la confiabilidad de las pruebas utilizadas, así como la falta de uniformidad en los criterios de evaluación entre laboratorios, pero sobre todo, la subjetividad implícita en las escalas de evaluación de algunas de las pruebas utilizadas, la escasa replicabilidad de los resultados obtenidos y la dificultad inherente para separar los componentes motores de la conducta de los aspectos motivacionales o de memoria, hacen difícil la identificación de las regiones cerebrales y sistemas de neurotransmisión implícitos en la manifestación de la pérdida de las capacidades motoras en animales viejos.

Sin embargo, es generalmente aceptado el que el sistema nervioso central es el principal responsable del pobre desempeño motor de los animales viejos, ya que las alteraciones del sistema neuromuscular sólo limitan de forma secundaria la etiología de las deficiencias del movimiento y éstas sólo participan de manera moduladora (Gutmann y Hanzlikova, 1972; Frolkis y cols., 1976; Shock, 1977; Scheibel y Scheibel, 1977; Spirduso, 1982; Welford, 1982; Spirduso y cols., 1988). Diversos estudios han confirmado que durante el envejecimiento, la notable disminución de la velocidad de los procesos motrices es una regla general y que puede ser considerada como una característica válida y confiable del envejecimiento (Welford, 1982, 1984; Campbell y cols., 1980; Potvin y cols., 1980).

Con base en lo descrito con anterioridad se diseñó la prueba de la viga inclinada tomando ventaja de los siguientes factores:

- El entlentecimiento en los movimientos de los animales viejos.

obteniendo una prueba sencilla y de bajo costo.

- Haciendo una combinación de las pruebas más confiables y reproducibles previamente reportadas como el ascenso y descenso en una pantalla inclinada, el puente elevado y el reflejo prensil,

- Eliminando escalas subjetivas y estableciendo criterios claros de evaluación (Tiempo total, Tiempo de no movimiento y número de ratas capaces de cruzar), que pueden ser utilizados fácilmente en otros laboratorios.

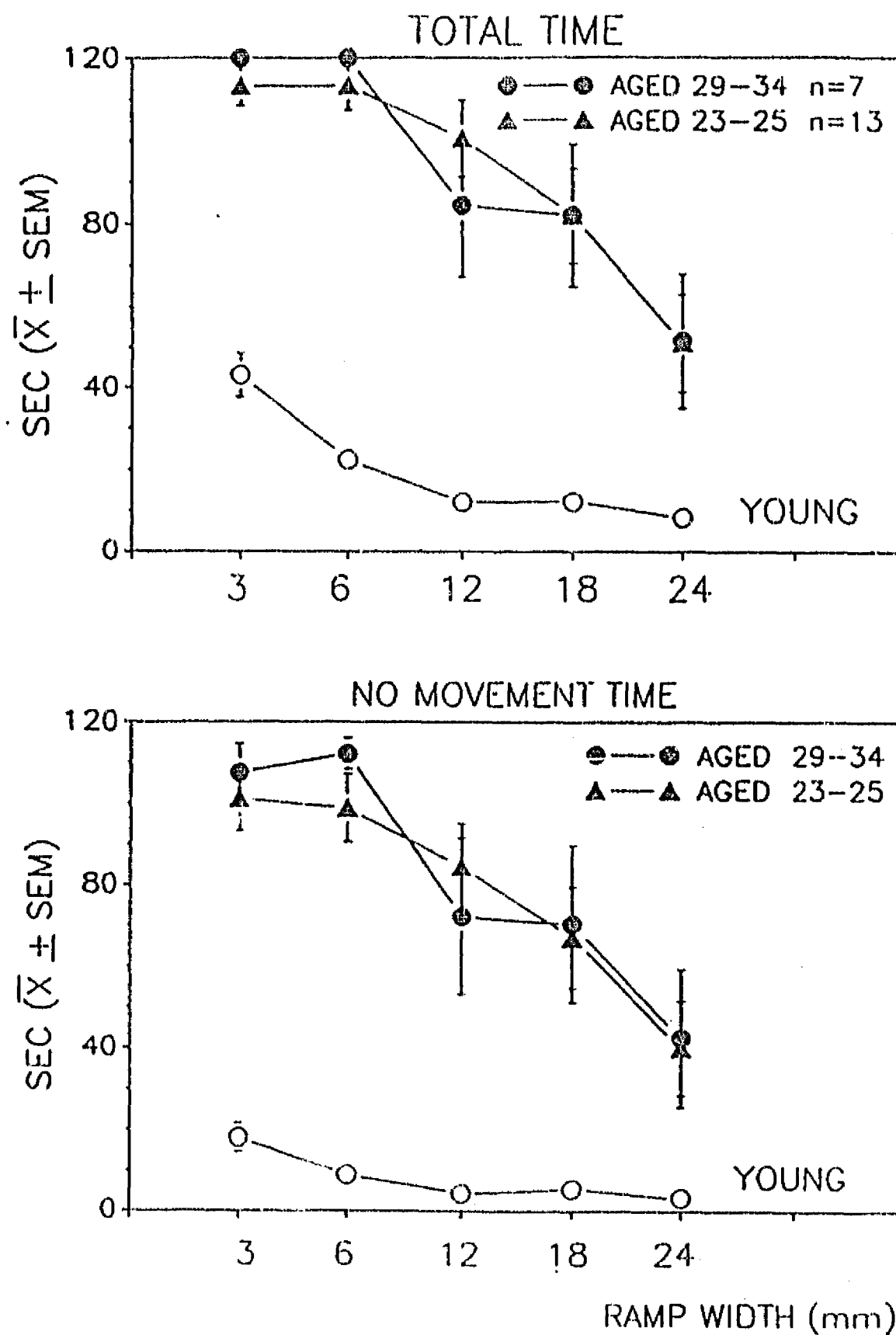


Figura 4. Comparación del desempeño motor entre dos grupos de ratas viejas de 23 a 25 meses

y 29 a 34 meses de edad utilizadas en este estudio.

ESTA TESIS NO PUEDE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Preentrenando a los animales por una semana con el fin de eliminar mejoras en el desempeño de los animales viejos por falta de ejercicio.

- Eliminando los efectos de la diferencia de peso entre ratas jóvenes y viejas sobre el desempeño motor, al aumentar súbitamente el peso de los animales jóvenes en 40% sin que se presentaran diferencias significativas (fig. 5 artículo).

- Eliminando aspectos motivacionales y de memoria.

- Forzando a los animales a hacer uso de todas sus facultades y coordinación motora.

Nuestros resultados muestran que la prueba de la viga inclinada logra establecer diferencias evidentes, claras y estadísticamente significativas entre el desempeño motor de las ratas jóvenes vs las ratas viejas (fig. 4 artículo). Cabe resaltar que al no existir diferencias estadísticamente significativas entre las ratas viejas con 23 a 25 meses y 29 a 34 meses de edad, éstas fueron consideradas como un sólo grupo (ver figura 4 texto).

Las diferencias entre las ratas jóvenes y las ratas viejas entre los 23 y 34 meses de edad fueron evidentes y homogéneas, sin necesidad de someter a los animales a condiciones extenuantes como las reportadas por Janike y colaboradores (1988). Posiblemente estas diferencias sean tan claras gracias a que para el desempeño de esta prueba se requiere que los animales realicen un esfuerzo substancial que requiere de un alto desempeño y coordinación motora.

Gracias a las claras diferencias entre el desempeño motor de las ratas jóvenes y las ratas viejas y a las exigencias de coordinación motora implícitas en la prueba, la acción de los agonistas y antagonistas dopaminérgicos administrados probaron tener efectos significativos sobre la coordinación motora, tanto de las ratas jóvenes como de las ratas viejas.

Desde hace más de 30 años se ha reportado que en animales jóvenes, la interferencia del sistema dopaminérgico estriatal por la administración de reserpina, comprometen los reflejos de postura y decrecientan la actividad locomotora (Carlsson y cols., 1957; Blaschko y Chrusciel, 1960). Mas aún, ha sido ampliamente documentado que la administración de neurolepticos en dosis tales que no induzcan un estado cataleptico, producen importantes decrementos de los reflejos de la postura, balance y coordinación motora (Rolls y cols., 1974; Mora y cols., 1975; Fibiger y cols., 1976; Fibiger, 1978; Carp y Anderson, 1979; Joseph y Roth, 1988).

Nuestro estudio corrobora estas observaciones ya que la administración de haloperidol en dosis dentro del rango terapéutico (0.1 y 0.2 mg/Kg), produjo un severo deterioro dosis dependiente del desempeño motor de los animales jóvenes, los que alcanzaron valores similares a los observados en los animales viejos (fig. 6 artículo). Este resultado hace evidente la importancia de las funciones motoras estriatales, sobre la coordinación motora necesaria para la realización de esta prueba. Asimismo, es un resultado indicativo de la sensibilidad de nuestra prueba, ya que los animales inyectados con haloperidol al ser

colocados sobre la viga mostraron un severo deterioro de su coordinación motora, sin embargo al encontrarse en su caja no mostraron ninguna alteración conductual aparente.

Nuestros resultados confirman las observaciones previamente reportadas por Brailowsky y Knight (1987), quienes mediante unaprueba de puente elevado, demostraron que la ejecución motora de las ratas de 9 meses de edad, puede ser severamente impedida por la administración de 0.1 mg/Kg i.p. de haloperidol; misma dosis empleada en nuestros experimentos. En este mismo estudio Brailowsky y Knight, realizaron una investigación integral sobre la participación del sistema dopaminérgico en la recuperación funcional de la hemiplegia inducida por la infusión intracortical de GABA en ratas jóvenes y viejas, demostrando que la administración de haloperidol (0.1 mg/Kg i.p.), produce en ambos grupos de animales, la reaparición de un estado hemiplegico muy semejante al observado ante la infusión de GABA, aun cuando los animales se habían recuperado (tres semanas después) del estado hemiplegico inducido por la infusión inicial de GABA. En los animales jóvenes el restablecimiento de la hemiplegia fue mas corta (un día) y menos pronunciada que la observada en los animales viejos (tres dias). La administración de apomorfina (0.5 mg/Kg i.p.) antes o inmediatamente después de la administración de haloperidol no logro prevenir o revertir la aparición de las deficiencias motoras. Efectos similares fueron observados en animales jóvenes infundidos con GABA o solución salina a los que se les administro anfetamina. Asimismo, en animales a los que se les practico una lesión cortical 7 a 12 meses

antes, no mostraron hemiplegia ante la administración de haloperidol. Estos datos muestran que en el cerebro envejecido los efectos nocivos de la lesión son mas pronunciados o bien la recuperación de ésta es más lenta que en el cerebro joven.

La administración de haloperidol y otros neurolépticos en dosis subcatalepticas, ha sido muy utilizada para el estudio de los mecanismos cerebrales de motivación y autoestimulación cerebral desde la aparición de los trabajos pioneros de Olds y Milner en 1954. Como resultado de esos estudios surgió la "hipótesis catecolaminérgica" de los mecanismos cerebrales de motivación y autoestimulación cerebral, propuesta inicialmente por Stein (1964, 1968) y posteriormente elaborada por Crow (1972) y Wise (1978, 1982). Esta hipótesis postulaba que las neuronas catecolaminérgicas centrales median los mecanismos de motivación y autoestimulación cerebral, ya que la administración de haloperidol y otros neurolépticos modifican significativamente estos patrones conductuales.

Esta hipótesis se fundamentaba en los trabajos que reportaron que la administración de neurolépticos en dosis iguales ó menores a las utilizadas por nosotros producen un decremento significativo de la autoestimulación cerebral (Wauquier y Nimegeers, 1972; Liebman y Butcher, 1973; Phillips, y cols., 1975; Fouriezos y Wise, 1976; Schaefer y Holtzman, 1979; Schaefer y Michael, 1980), así como reducción de la actividad exploratoria en la prueba de campo abierto (Schaefer y Michael, 1984), y facilitación de la prevención activa (Weiner y Feldon, 1987). Estos resultados rápidamente fueron postulados como

evidencia inequívoca de la participación de la dopamina en los procesos motivacionales, e incluso descartaron la participación del sistema motor (Yokel y Wise, 1975; Fouriezos y Wise, 1976; Wise, 1978, 1981, 1982).

Sin embargo, nuestros resultados parecen invalidar estos argumentos que sostienen que los efectos de la administración de neurolépticos en dosis terapéuticas no afectan el desempeño motor. De igual forma, nuestros resultados

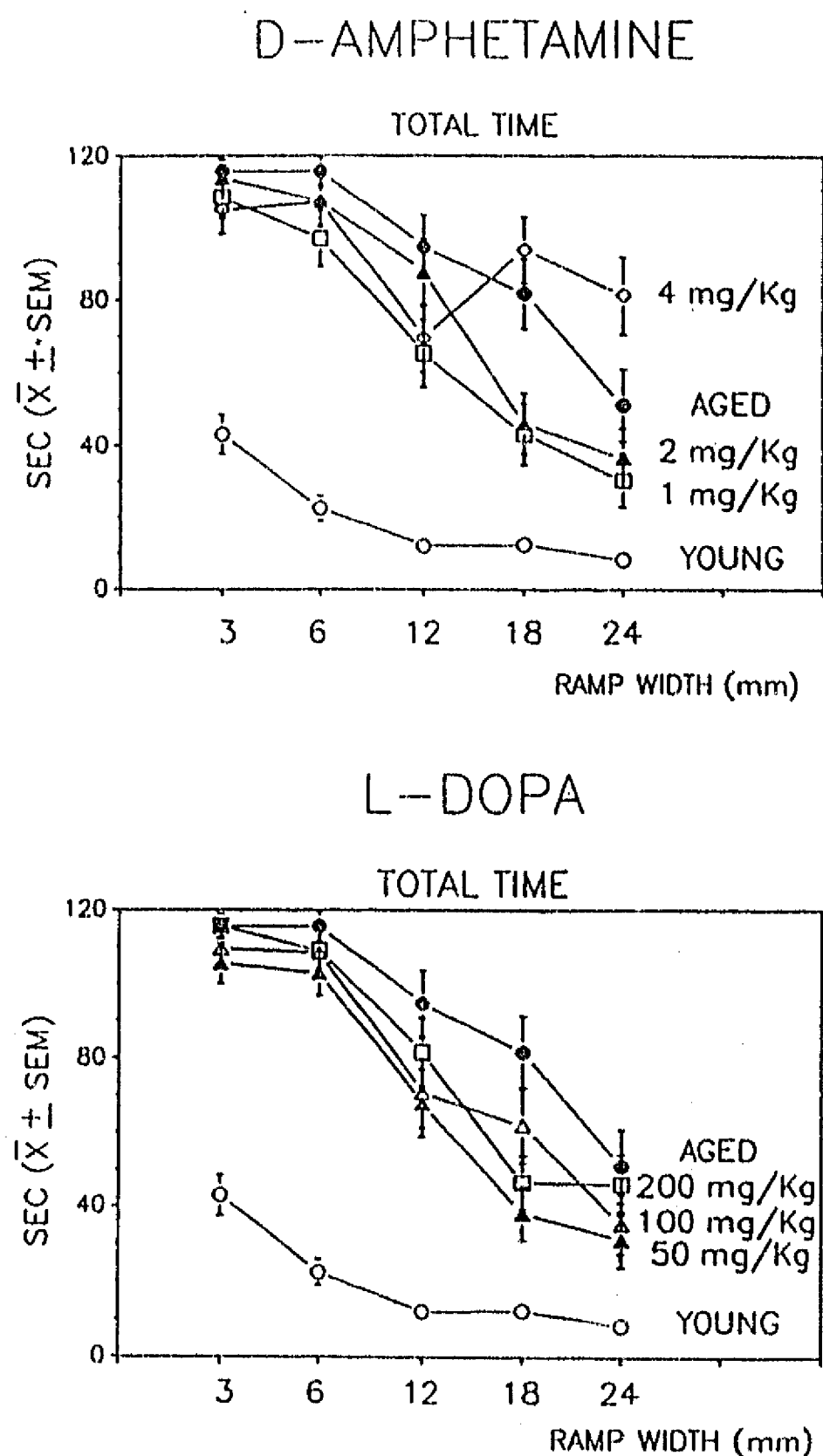


Figura 5: Curvas dosis respuesta de la administración de L-dopa y D-Anfetamina sobre el desempeño motor de los animales viejos (ver texto).

apoyan y corroboran los reportes en los que se sostiene que los efectos de la administración de haloperidol sobre los mecanismos de motivación y autoestimulación cerebral son puramente motrices e implica un mal funcionamiento del sistema dopaminérgico nigroestriatal (Wauquier y Niemegeers, 1972; Rolls y cols., 1974; Mora y cols., 1975; Phillips y cols., 1975; Phillips y cols., 1976; Fibiger y cols., 1976; Fibiger, 1978; Prado-Alcalá, 1986).

En nuestro estudio no se recompensó a los animales sometidos a la prueba, e incluso si éstos no alcanzaban su caja eran retirados después de 120 segundos, con el fin de no involucrar aspectos motivacionales o de memoria, por lo que nuestras observaciones parecen ser puramente motoras.

Contrariamente, la administración de L-Dopa ó D-anfetamina, fármacos cuya capacidad para incrementar la transmisión dopaminérgica estriatal está bien documentada (para revisión ver Costa y Garattini, 1970; Quinn, 1990; Wooten, 1990), lograron mejorar significativamente el desempeño motor de las ratas viejas (figuras 7 y 8 artículo), a diferencia de otros reportes en donde la administración de este tipo de sustancias tuvieron efectos sumamente limitados (Joseph y cols., 1978, 1980, 1983; Campbell y cols., 1984; Janicke y Wrobel, 1984; Henry y cols., 1987; Altar y Marshall y cols., 1982, 1988).

La diferencia entre nuestros resultados y los reportados por estos autores, es posiblemente debida a las escalas de evaluación y a la sensibilidad de las pruebas utilizadas. En este sentido, nuestros resultados concuerdan con las

observaciones de Janicke y colaboradores (1988), quien utilizando una prueba motora demandante como el puente redondo en rotación, logró establecer diferencias estadísticamente significativas al administrar D-anfetamina a ratas viejas.

Cabe resaltar que las dosis de L-Dopa y D-anfetamina que mejor redujeron las deficiencias motoras en los animales viejos, fueron las menores utilizadas en las curvas dosis-respuesta (D-anfetamina = 1 mg/Kg y L-Dopa = 50 mg/Kg), ya que dosis mayores de estos fármacos indujeron movimientos estereotipados en los animales. Sin embargo, como se puede apreciar en la figura 5 del texto, a pesar de los movimientos estereotipados en la mayoría de los casos los valores del tiempo total fueron menores a los valores obtenidos por los mismos animales en ausencia de fármacos. Nuevamente, estos resultados apuntan hacia la sensibilidad de esta prueba, ya que es capaz de detectar las alteraciones en el desempeño motor, producidas por los movimientos estereotipados de los animales inyectados.

Convencionalmente la aproximación experimental más utilizada en el estudio de las enfermedades neurodegenerativas, ha sido el analizar en animales jóvenes las consecuencias conductuales de la lesión selectiva de regiones cerebrales que por estudios clínicos se conoce están involucradas en la manifestación de alguna enfermedad. Esta aproximación tiene como objetivo la identificación de los mecanismos fisiológicos y la localización de los sistemas de neurotransmisión necesarios para el funcionamiento normal, así como específicamente anormal del sistema nervioso mediante lesiones con

neurotoxinas altamente selectivas. Sin embargo, los modelos de lesión tienen la desventaja que obvian la compleja interacción entre el proceso de envejecimiento y la manifestación de la enfermedad.

En el estudio de la enfermedad de Parkinson, el modelo experimental del síndrome de deficiencia de dopamina implica la lesión unilateral de la vía nigroestriatal en animales jóvenes (Ungerstedt, 1968, 1970, 1971a,b). Sin embargo, en la enfermedad de Parkinson la degeneración de esta misma vía es evidentemente bilateral, progresiva y no involucra la pérdida total de la población neuronal en la SNc. Por estas razones en el estudio experimental de la enfermedad de Parkinson sería más apropiado la utilización de animales viejos, que por las alteraciones en el sistema motor extrapiramidal muestran pérdida de sus capacidades motoras debidas únicamente al proceso neurodegenerativo progresivo y bilateral del envejecimiento.

Dado que las deficiencias motoras de las ratas viejas pueden ser reducidas significativamente mediante la administración de fármacos que favorecen la transmisión dopaminérgica, en el presente estudio decidimos evaluar si el trasplante de tejido adrenal logra inducir efectos similares y a largo plazo en este mismo sistema. Asimismo, fue el propósito de este estudio el establecer una comparación entre los efectos funcionales del trasplante de células cultivadas y el de tejido recién disecado.

Los resultados de este estudio muestran que las diferencias entre el desempeño motor de los animales jóvenes y los viejos fueron nuevamente claras y fácilmente

detectables, corroborando nuestras observaciones previas acerca de la sensibilidad y confiabilidad de la prueba de la viga inclinada. La confiabilidad de la prueba es apoyada sustancialmente por el hecho de que las ratas viejas a las que se les practicó el falso trasplante, no mostraron mejoría en su coordinación motora a lo largo del período de prueba e incluso se observó un decremento de su capacidad motora hacia los 70 y 84 días postrasplante (fig. 4 artículo y 6 texto). Estos datos demuestran que cuando los animales experimentales son sometidos regularmente y por períodos prolongados a la realización de la prueba, no se presentan mejorías en el desempeño motor por efecto de la práctica como sucede en otros modelos (McCafferty y Edington, 1974; Ingram y cols., 1982; Samorajski y cols., 1985; McDonald y cols., 1986), y que el proceso de envejecimiento continua afectando las capacidades motoras de los animales.

En vista de que las alteraciones dependientes de la edad en el sistema motor extrapiramidal afectan ambos hemisferios, es que se decidió implantar tejido adrenal cultivado dentro de ambos caudados, esperando que esta manipulación redujese más eficientemente las deficiencias motoras de los animales trasplantados. De acuerdo a la prueba de Friedman, los animales que recibieron trasplantes bilaterales mostraron una mejoría significativa en cinco de las curvas de no movimiento, mientras que ninguna de las curvas de tiempo total presentaron diferencias estadísticas. Mediante la prueba de Wilcoxon, sólo se pudieron identificar diferencias en 2 puntos de las doce curvas (fig. 2 artículo). El desempeño motor global, mostró que el tiempo total

presentó un ligero aumento, mientras que el tiempo de no movimiento disminuyó sin ser estadísticamente significativo (fig. 6 texto).

Los animales con transplante unilateral mostraron una tendencia hacia el mejoramiento motor, aunque las pruebas estadísticas aplicadas revelaron que el mejoramiento fue sumamente inconsistente, ya que únicamente en tres de las doce curvas, la prueba de Friedman reveló diferencias significativas, mientras que la prueba de Wilcoxon mostró diferencias en únicamente tres puntos de todas las curvas (fig. 1 artículo).

A pesar de ello el desempeño motor global (fig. 6, texto), reveló que los

animales con transplante unilateral, mejoraron significativamente en su desempeño motor global, casi tanto como los animales que recibieron el transplante de médula adrenal fresca.

El análisis histológico e inmunocitoquímico del cerebro de los animales con transplante de células cultivadas (figs. 6 y 7 artículo), mostró que aunque los transplantes presentaban una matriz inmunorreactiva a fibronectina revelando la presencia de fibroblastos, el estado del tejido era de completo deterioro, con pocas células cromafines inmersas en el tracto de inyección así como la presencia de macrófagos y una marcada reacción glial.

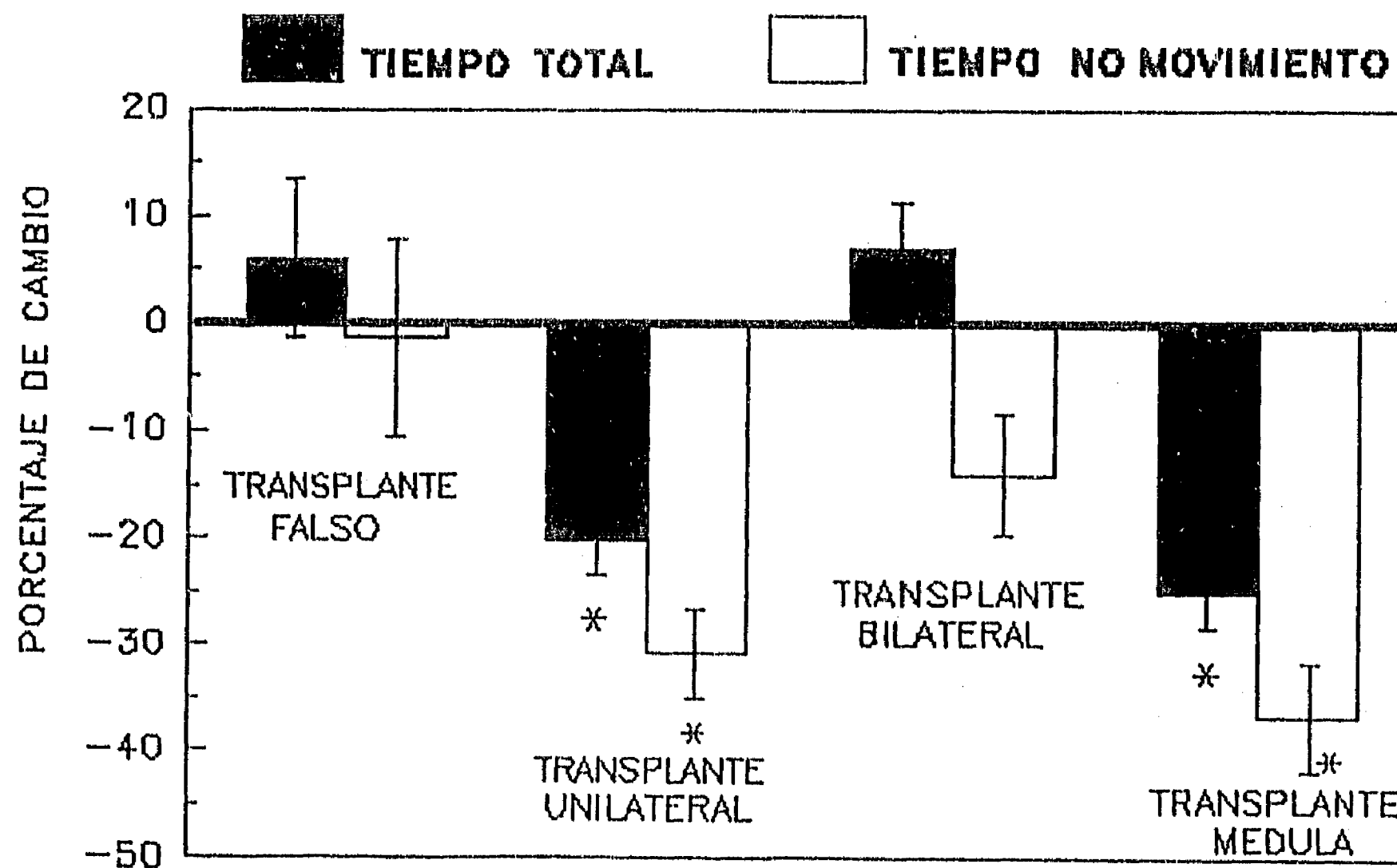


Figura 6: Desempeño motor global de los cuatro grupo utilizados en este estudio evaluados mediante el tiempo de movimiento y el tiempo de no movimiento, expresados através de los

porcentajes de cambio promedio obtenidos de las seis evaluaciones realizadas y analizados estadísticamente mediante una prueba de t (*= $p < 0.05$ vs transplante falso).

El procedimiento de implantación que seleccionamos en este estudio para la implantación de las células cultivadas, es particularmente adverso para la sobrevivencia del tejido transplantado ya que los trasplantes de células catecolaminérgicas sobreviven mejor cuando son colocados en la región periventricular que cuando son implantados en el interior del parénquima estriatal (Nishino y cols., 1986b). Esta estrategia ha sido utilizada por otros grupos con el fin de incrementar la eficiencia de los trasplantes catecolaminérgicos por estar éstos directamente inmersos en el estriado denervado, desde donde puedan ejercer más directamente sus efectos benéficos. Sin embargo, dada la pobre sobrevivencia del tejido transplantado los resultados conductuales obtenidos no son los esperados. El escaso número de células cromafines presentes en nuestros trasplantes de células cultivadas corrobora los resultados de reportes anteriores sobre la pobre sobrevivencia de los trasplantes de médula adrenal y sugiere que los índices de sobrevivencia de estos trasplantes son aún menores al 5% (Stromberg y cols., 1985; Patel-Vaidya y cols., 1985; Freed y cols., 1986b; Doering, 1992), y más semejantes al 0.1-1% reportado por Brundin y colaboradores (1985a).

Nuestros datos concuerdan con los resultados de otros grupos, en donde la sobrevivencia del tejido adrenal transplantado es sumamente pobre y en donde se observó una recuperación modesta y transitoria de las funciones motoras, como los reportados en ratones jóvenes (Bohn y cols., 1987), ratas y ratones viejos (Date y cols., 1989, 1990b; Pezzoli y cols., 1990), primates (Hansen y

cols., 1988; Bankiewicz y cols., 1990; Kordower y cols., 1990), e incluso en pacientes con enfermedad de Parkinson a los que se les autotransplantó tejido medular adrenal (Jankovic y cols., 1989; Peterson y cols., 1989; Hirsch y cols., 1990; Waters y cols., 1990).

Cabe destacar que a pesar de la relativa abundancia de células cromafines presentes en nuestros cultivos, la proporción de fibroblastos en el cultivo era mayor gracias a su capacidad de reproducirse en estas condiciones. Al cosechar las células cultivadas (separarlas del substrato), posiblemente el proceso de tripsinización y centrifugación redujo considerablemente la población de células cromafines las cuales como se ha descrito son sumamente sensibles a ésta y otro tipo de manipulaciones. Así, aunque se transplantaron 300 000 células vivas, posiblemente la proporción de fibroblastos en el tejido implantado era sustancialmente mayor, por lo que en este tipo de trasplantes se identificó una densa matriz inmunoreactiva a fibronectina.

En vista de lo antes expuesto, el pobre mejoramiento en la coordinación motora de las ratas viejas que recibieron trasplantes de células cultivadas, pudo deberse a que la cantidad de tejido utilizado en cada transplante (300 000 células) fue insuficiente para inducir algún tipo de recuperación. Posiblemente mediante la utilización de volúmenes de tejido mayores o bien protegiendo a las células a transplantar de las reacciones citotóxicas mediadas por radicales libres y calcio, y depurando el sistema de cosecha del tejido cultivado, se puedan obtener mejores resultados conductuales.

Los datos histológicos sugieren que posiblemente el mejoramiento en el desempeño motor global de los animales que recibieron trasplante unilateral de células cultivadas, podría ser la combinación de los efectos tempranos ejercidos por el tejido transplantado y de fenómenos plásticos inducidos por la lesión mecánica al introducir la micropipeta y el tejido en el caudado receptor, semejantes a los reportados por Nieto-Sampedro y colaboradores (1987) y Agnati y colaboradores (1992). Este efecto no fue observado en los animales con trasplante bilateral posiblemente por que los efectos de la lesión mecánica bilateral sobrepasaron la capacidad de respuesta plástica del cerebro receptor (Agnati y cols., 1992).

Por otra parte, el trasplante de médula adrenal fresca, colocada en bloque en el interior del ventrículo lateral, fue el único tipo de trasplante capaz de reducir significativamente las deficiencias motoras de los animales viejos transplantados durante todo el período de evaluación (fig. 3). Gage y colaboradores (1983), reportaron la recuperación de las funciones motoras en ratas viejas de la cepa Sprague Dawley mediante el trasplante de tejido catecolaminérgico mesencefálico. Sin embargo los autores únicamente observaron recuperación en dos (puente cuadrado y puente redondo) de las cinco pruebas motoras utilizadas (actividad locomotora, reflejo prensil y conducta de nado), las cuales no son motoramente tan demandantes como la prueba de la viga inclinada.

El análisis histológico e inmunocitoquímico de los trasplantes en bloque reveló una buena integración y sobrevivencia del implante así como, la

presencia de células cromafines en el interior del tejido transplantado. Algunas de las células identificadas como cromafines mostraban cambios fenotípicos extendiendo prolongaciones y adquiriendo una morfología similar a la de una neurona (fig 8). Este resultado es la primera evidencia de que en el cerebro envejecido las células cromafines transplantadas puedan sufrir cambios fenotípicos, aunque ya ha sido reportado que en el cerebro adulto las células cromafines transplantadas pueden cambiar su fenotipo (Nishino y cols., 1988). Este cambio en el fenotipo de algunas células cromafines podría ser indicio de la posible acción de factores tróficos en el cerebro receptor o bien contenidos en el tejido implantado.

La tinción inmunocitoquímica de tirosina hidroxilasa reveló un halo de tinción localizado en el cuerpo caloso vecino al trasplante, sin embargo no se lograron identificar fibras que desde el trasplante invadieran a esta estructura, confirmando la escasa capacidad del los trasplantes de médula adrenal para reinervar el caudado receptor. Cabe resaltar que tanto la inmunotinción de fibronectina como la de GFAP presentaron patrones de tinción en el cuerpo caloso muy similares a los observados con la inmunotinción de tirosina hidroxilasa. Este tipo de halos de inmunotinción positiva a tirosina hidroxilasa rodeando los trasplantes de médula adrenal han sido a su vez reportados en el ratón (Bohn y cols., 1987; Date y cols., 1990b), en primates (Findaca y cols., 1988; Hansen y cols., 1988; Baker y Ridley, 1992), e incluso en humanos (Kordower y cols., 1990).

Los autores de estos estudios han sugerido que posiblemente la médula

adrenal transplantada puede ejercer un efecto trófico sobre las neuronas de la SNc, las que al no haber sido lesionadas con MPTP o 6-OHDA, podrían responder a la presencia del implante mediante formación de nuevas neuritas que en este caso rodean el trasplante y posiblemente, a través de este proceso logren reducir las deficiencias motoras. Incluso en uno de nuestros trasplantes (fig. 8), fue posible el detectar algunas fibras particularmente gruesas e inmunoreactivas a tirosina hidroxilasa, las cuales pudieron ser identificadas ascendiendo a través de la porción lateral del cuerpo estriado, siguiendo el curso de la pared del ventrículo lateral y a través del cuerpo calloso penetrando al interior del trasplante.

La inmunotinción de fibronectina en los trasplantes en bloque reveló la presencia de fibroblastos además de una intrincada matriz similar a la que puede ser observada con esta misma tinción en la médula adrenal intacta. La inmunotinción de GFAP reveló la presencia de abundantes astrocitos reactivos invadiendo el cuerpo calloso vecino al trasplante pero ninguno dentro de este manteniéndose bien delimitados el tejido transplantado y el cerebro receptor.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados sugieren que la viga inclinada es una prueba sensible y confiable, así como una poderosa herramienta para la detección de disfunciones de la coordinación motora dependientes de la edad en roedores experimentales. Por otra parte los resultados farmacológicos de este estudio

sugieren que en la manifestación de las deficiencias motoras dependientes de la edad, la participación del sistema dopaminérgico estriatal es sumamente importante. Sin embargo, la reducción de las deficiencias motoras de las ratas viejas por acción de la L-dopa ó D-anfetamina es solamente parcial, sugiriendo que otros sistemas involucrados en la regulación de la coordinación motora están igualmente alterados por el proceso de envejecimiento. La identificación de estos sistemas así como sus alteraciones pueden ser a su vez estudiadas mediante esta prueba bajo protocolos experimentales ó farmacológicos adecuados.

Los trasplantes de médula adrenal fetal, implantados como bloque de tejido en el ventrículo lateral, pero no los trasplantes de células cultivadas de esta misma glándula, logran reducir significativamente y a largo plazo las deficiencias motoras en ratas viejas. El patrón de disminución de las deficiencias motoras inducido por este tipo de trasplantes es muy similar al patrón observado ante la administración de L-dopa (50 mg/Kg). Sin embargo, aparentemente el trasplante tiene un efecto máspronunciado sobre la coordinación del animal en las vigas más delgadas las cuales requieren de un mejor desenvolvimiento motor, mientras que la L-dopa parece tener un efecto más acentuado sobre las vigas más gruesas (fig. 5 artículo).

La integración y sobrevivencia de los trasplantes en bloque concuerdan con reportes previos en los que se transplantó tejido fetal al cerebro envejecido en otros sistemas (Azmitia y cols., 1981; Azmitia,

1987), sin embargo estas observaciones no parecen ser aplicables a los trasplantes de células cultivadas.

Las evidencias conductuales y morfológicas de este estudio sugieren que posiblemente el efecto de los trasplantes de médula adrenal sobre la coordinación motora de las ratas viejas podría ser a través de la interacción trófica entre el trasplante y el cerebro receptor. Mas aún, en un trabajo previo realizado en este laboratorio se reportó que las alteraciones electrofisiológicas dependientes de la edad observadas en las células dopaminérgicas de la SNC,

pueden ser parcialmente restituidas mediante el trasplante de médula adrenal al ventrículo lateral (Lavin y Drucker, 1991), indicando que posiblemente el tejido transplantado podría estar actuando sobre las propiedades eléctricas de estas neuronas. Sin embargo otro tipo de mecanismos de acción como una posible regulación positiva de los receptores a dopamina o un aumento de los niveles de dopamina intraestriatal no pueden ser descartados, aunque evidencias recientes parecen descartar esta última opción (Becker y Freed, 1988; Becker y cols., 1990a,b).

REFERENCIAS

- A -

- Adams, J.D. y Odunze, I.N. (1991). Oxygen free radicals and Parkinson's disease. *Free Rad. Biol. Med.* 10: 161-169.
- Adolfsson, R., Gottfries, C.G., Ross, B.E. y Winblad, B. (1979). Changes in brain catecholamines in patients with dementia of Alzheimer type. *Br. J. Psychiatry.* 135: 216-223.
- Aebischer, P., Tesco, P.A., Winn, S.R., Greene, L.A. y Jaeger, C.B. (1991). Long term cross species brain transplantation of a polymer encapsulated dopamine secreting cell line. *Exp. Neurol.* 111: 269-275.
- Aguzzi, A., Kleihues, P., Heckel, K. y Wiestler, O.D. (1991). Cell type-specific tumor induction in neural transplants by retrovirus mediated oncogene transfer. *Oncogene.* 6: 113-118.
- Ahlskog, J.E. (1990). Parkinson's disease: New treatment strategies. *Compr. Ther.* 16: 41-46.
- Albin, R.L., Young, A.B. y Penney, J.B. (1989). The functional anatomy of the basal ganglia disorders. *Trends Neurosci.* 12: 366-375.
- Alexander, G.E. y DeLong, M.R. (1985). Microstimulation of the primate neostriatum: II. Somatotopic organization of striatal microexcitatory zones and their relation to neuronal response properties. *J. Neurophysiol.* 53: 1417-1430.
- Alexander, G.E., DeLong, M.R. y Strick, P.L. (1986). Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* 9: 357-381.
- Alexander, G.E. (1987). Selective neuronal discharge in monkey putamen reflects intended direction of planned limb movements. *Exp. Brain Res.* 67: 623-634.
- Alexander, E.G. y Crutcher, M.D. (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci.* (13) 7: 266-271.
- Algeri, S., Achilli, G., Cimino, M., Perego, C., Ponzio, F. y Vantini, G. (1982). Study on some compensatory responses of dopaminergic system in aging rats. *Exp. Brain Res. Suppl.* 5: 146-152.
- Allen, G.I. y Tsukaahara, N. (1974). Cerebrocerebellar communication system. *Physiol. Rev.* 54: 975-1006.
- Allen, G.S., Burns, R.S., Tulipan, N.B. y Parker, R.B. (1989). Adrenal medullary transplantation to the caudate nucleus in Parkinson's disease. Initial clinical results in 18 patients. *Arch. Neurol.* 46: 478-491.
- Altar, C.A. y Marshal, J.F. (1988). Neostriatal dopamine uptake and reversal of age related movement disorders with dopamine-uptake inhibitors. En: Joseph, J.A. (Ed.) Central determinants of age-related declines in motor function. *Ann. New York Acad. Sci.* 515: 145-160.
- Altavista, C.M., Bentivoglio, A.R., Crociani, P., Rossi, P. y Albanese, A. (1988). Age-dependent loss of cholinergic neurons in basal ganglia of rats. *Brain Res.* 455: 117-181.
- Altman, J. y Sudarshan, K. (1975). Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Animal Behavior.* 23: 896-920.
- Altobelli, R. (1914). Innesti cerebrali. *Gazz. Int. Med. Chir.* 17: 25-34.
- Ambani, L.M., Van Woert, M.H. y Murphy, S. (1975). Brain peroxidase and catalase in Parkinson's disease. *Arch. Neurol.* 32: 114-118.
- Ames, B.N. y Shigenaga, M.K. (1992). DNA damage by endogenous oxidants and mitogenesis as causes of aging and cancer. En: Scandalios, J.G. (Ed). *Molecular Biology of free radical scavenging systems.* Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1-22.
- Anden, N.E., Fuxe, K., Hamberger, B. y Hokfelt, T. (1966). A quantitative study on the nigro-striatal dopamine neuron system in the rat. *Acta Physiol. Scand.* 67: 306-312.
- Anderson, M.E. y Horak, F.B. (1985). Changes in spontaneous discharge pattern of Palido-thalamic neurons induced by movement in monkeys. *J. Neurophysiol.* 54: 433-488.

- Ando, S., Toyuda, Y., Nagai, Y. y Ikuta, F. (1986). Alteration in brain gangliosides and other lipids of patients with Creutzfeld-Jakob disease and subacute sclerosing panencephalitis. *Jpn. J. Exp. Med.* 54: 229-234.
- Appel, H.H. (1981). A unifying hypothesis for the cause of amyotrophic lateral sclerosis, Parkinsons and Alzheimer disease. *Ann. Neurol.* 10: 499-505.
- Arai, Y. y Kinemuchi, H. (1988). Differences between monoamine oxidase concentrations in striatum and forebrain of aged and young rats. *J. Neural Transm.* 72: 99-105.
- Araki, T., Kanai, Y., Kato, H., Kogure, K., Shuto, K. y Ishida, Y. (1993). Effect of viconate against regional age-related changes in the gerbil brain. *Pharm. Biochem. Behav.* 44: 17-25.
- Arbuthnott, G., Dunnett, S.B. y MacLeod, N. (1985). Electrophysiological recording from nigral transplants in the rat. *Neurosci. Lett.* 57: 205-210.
- Armstead, W.M., Mirro, R., Leffler, C.W. y Busija, D.W. (1989). Cerebral superoxide anions generation during seizures in newborn pigs. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 9: 175-179.
- Aruoma, O.I. y Halliwell, B. (1987). Superoxide-dependent and ascorbate-dependent formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. are lactoferrin and transferrin promoters of hydroxyl-radical generation. *Biochem. J.* 241: 273- 285.
- Aust, S.D., Morehouse, L.A. y Thomas, C.E. (1985). Role of metals in oxigen radical reactions. *J. Free. Rad. Biol. Med.* 1: 3-25.
- Azmitia, E.C., Perlow, M.J., Brennan, M.J. y Lauder, J.M. (1981). Fetal raphe and hippocampal transplants into adult and aged C57BL/6N mice: a preliminary immunocytochemical study. *Brain Res. Bull.* 7: 703-710.
- Azmitia, E.C. (1987). A serotonin-hipocampal model indicates adult neurons survive transplantation and aged target may be deficient in a soluble serotonergic growth factor. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) Cell and tissue transplantation into the adult brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 495: 138-152.
- B -
- Backlund, E.O., Granberg, P.O., Hamberger, B., Knutsson, E., Martensson, A., Sedvall, G., Selger, A. y Olson, L. (1985). Transplantation of adrenal medullary tissue to striatum in parkinsonism. First clinical trails. *J. Neurosurg.* 62: 169-173.
- Bakay, A.E., Allen, G.S., Apuzzo, M., Borges, L.F., Bullard, D.E., Ojemann, G.A., Oldfield, H., Penn, R., Purvis, J.T. y Tindall, G.T. (1990a). Preliminary report on adrenal medullary grafting from the American Association of Neurological Surgeons Graft Project. *Prog. Brain Res.* 82: 603-610.
- Bakay, A.E., Watts, R.L., Freeman, A., Iuvone, P.M., Eatts, N. y Graham, S.D. (1990b). Preliminary report on adrenal brain transplantation for Parkinson's disease in man. *Stereotactic. Funct. Neurosurg.* 54-55: 312-323.
- Baker, H.F. y Ridley, R.M. (1992). Neural transplantation in primates: towards brain repair in humans. *Rev. Neurosci.* 3: 175- 190.
- Bankiewicz, K.S., Plunkett, R.J., Jacobowitz, D.M., Pomino, L., Di-Porzio, U., London, W.T., Kopin, I.J. y Oldfield, E.H. (1990). The effect of fetal mesencephalon implants on primate MPTP-induced parkinsonism. Histochemical and behavioral studies. *J. Neurosurg.* 72: 231-244.
- Barbeau, A. (1973). Aging and the extrapyramidal system. *J. Am. Geriatr. Soc.* 21: 145-149.
- Barja de Quiroga, G., Perez-Campo, R. y Lopez Torres, M. (1990). Antioxidant defences and peroxidation in liver and brain of aged rats. *Biochem. J.* 272: 247-250.
- Barkai, A.I., Durkin, M., Dwork, A.J. y Nelson, H.D. (1991). Autoradiographic study of iron-binding sites in the rat brain: distribution and relationship to aging. *J. Neurosci. Res.* 29: 390-395.
- Battaglia, G., Norman, A.B. y Creese, I. (1988). Age-related differential recovery rates of rat striatal D-1 dopamine receptor following irreversible inactivation. *Eur. J. Pharmacol.* 145: 281-290.
- Beal, M.F., Hyman, B.T. y Koroshetz, W. (1993). Do defects in mitochondrial energy metabolism underlie the pathology of neurodegenerative disease. *Trends Neurosci.* 16: 125-131.

- Becker, J.B. y Freed, W.J. (1988). Adrenal medulla grafts enhance functional activity of the striatal dopamine system following substantia nigra lesions. *Brain Res.* 462: 401-406.
- Becker, J.B., Curran, E.J. y Freed, W.J. (1990a). Adrenal medulla grafts induced recovery of function in an animal model of Parkinson's disease: Possible mechanisms. *Can. J. Psychol.* 44(2): 293-310.
- Becker, J.B., Curran, E.J., Freed, W.J. y Poltorak, M. (1990b). Mechanisms of action of adrenal medulla grafts: the possible role of peripheral and central dopamine systems. *Prog. Brain Res.* 499-509.
- Benabid, A.L., Pollak, P., Gervason, C., Hoffmann, D., Gao, D.M., Hommel, M., Perret, J.E. y de Rougemont, J. (1991). Long term supression of tremor by chronic stimulation of the ventral intermediate thalaimic nucleus. *Lancet.* 337: 403-406.
- Ben-Shacher, D., Eshel, G., Finberg, J.P.M. y Youdim, M.B.H. (1991). The iron chelator desferrioxamine (desferal) retards 6-hidroxydopamine-induced degeneration of nigrostriatal dopamine neurons. *J. Neurochem.* 56: 1441-1444.
- Ben-Shacher, D., Eshel, G., Reiderer, P. y Youdim, M.B.H. (1992). Role of iron and iron chelation in dopaminergic-induced neurodegeneration: implications for Parkinsons disease. *Ann. Neurol. Suppl.* 32: S105-110.
- Benzi, G., Pastoris, O., Marzatico, F. y Villa, R.F. (1989). Age related effects induced by oxidative stress on the cerebral glutathione system. *Neurochem. Res.* 14: 473-481.
- Berger, T.H., Nisenbaum, E.S., Stricker, E.M. y Zigmond, M.I. (1987). Evidence for two functionally distinct subpopulations of neurons within striatum and their diferential sensitivity to dopamine. En: Chiodo, L.A. y Freeman, A.S. (Eds.) *Neurophysiology of dopaminergic systems Current status and clinical perspectives.* Lakeshore Pub. Comp. 253-284.
- Bergeron, R.J., Striff, R.R., Creary, E.A., Daniels, R.D., King, W., Luchetta, G., Wiegand, J., Moerker, T. y Peter, H.H. (1993). A cpmarative study of the iron clearing properties of desferriothiocin analouges with desferrioxamine-b in the cebus monkey model. *Blood.* 81: 2166-2173.
- Bing, G., Notter, M.F.D., Hansen, J.T., Kellog, C., Kordower, J.H. y Gash, D.M. (1990). Cografts of adrenal medulla with C6 glioma cell in rats with 6-OHDA induced lesions. *Neuroscience.* 34: 687-697.
- Bjorklund, A. y Stenevi, U. (1979). Reconstruction of the nigrostriatal pathway by intracerebral nigral transplants. *Brain Res.* 117: 555-560.
- Bjorklund, A., Dunnett, S.B., Stenevi, U., Lewis, M.E. y Iversen, S.D. (1980a). Reinnervation of the denervated striatum by substantia nigra transplants: functional consequences as revealed by pharmacological and sensorimotor testing. *Brain Res.* 199: 307- 333.
- Bjorklund, A., Schmidt, R.H. y Stenevi, U. (1980b). Functional reinnervation of the neostriatum in the adult rat by use of intraparenchimal grafting of dissociated cell suspensions from the rat substantia nigra. *Cell. Tissue Res.* 212: 39-45.
- Bjorklund, A., Stenevi, U., Schmidt, R.H., Dunnett, S.B. y Gage, F.H. (1983). Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. II. survival and growth of nigral cells implanted in diffetent brain sites. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 522: 11-22.
- Bjorklund, A. y Lindvall, O. (1984). Dopamine-containing systems in the CNS. En: Bjorklund, A. y Hokfelt, T. (Eds.) *Classical Transmitters in the CNS.* Elsevier, New York. 55-122.
- Bjorklund, A. y Gage, F.H. (1987). Grafts of fetal septal cholinergic neurons to the hippocampal formation in aged or fimbria-fornix-lesioned rats. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) *Cell and tissue transplantation into the adult brain.* Ann. N.Y. Acad. Sci. 495: 138-152.

- Bjorklund, A. (1991). Neural transplantation: an experimental tool with clinical possibilities. *Trends Neurosci.* 14(8): 319- 322.
- Blaschko, H. y Chrusciel, T.L. (1960). Motor impairment reduced by dopamine acting drugs. *J. Physiol.* 151: 272-284.
- Bloom, F.E. (1971) Fine structural changes in brain after intracisternal injection of 6-hydroxydopamine. En: Malforms, R. y Thoenen, H. (eds.) 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons. North Holland, Amsterdam. 135-146.
- Bohn, C.M., Cupit, L., Marciano, F. y Gash, D. (1987). Adrenal medulla grafts enhance recovery of striatal dopaminergic fibers. *Science.* 237: 913-916.
- Bolam, J.P.P., Freubd, T.F., Bjorklund, 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., Francis, C.M. y Henderson, Z. (1991). Cholinergic input to dopaminergic neurons in the substantia nigra: a double immunocytochemical study. *Neuroscience.* 41: 483-494.
- Bondareff, W. (1981). The neurobiological basis of age-related changes in neuronal connectivity. En: McGaugh, J. y Klesler, S. (Eds.) Aging: biology and behavior. Academic Press. New York. 141-158.
- Bondy, S.C., Martin, J., Halsall, L.C. y McKee, M. (1989). Increased fragility of neuronal membranes with aging. *Exp. Neurol.* 103: 61-63.
- Bossi, S.R., Simpson, J.R. y Isacson, O. (1993). Age dependence of striatal neuronal death caused by mitochondrial dysfunction. *Neuroreport.* 4: 73-76.
- Boveris, A. y Chance, B. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: general properties and the effect of hyperbaric oxygen. *Biochem. J.* 134: 707-716.
- Boyce, S., Kelly, E., Reavill, C., Jenner, P. y Marsden, C.D. (1984). Repeated administration of N-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine to rats is not toxic to striatal neurons. *Biochem. Pharmacol.* 1: 1747-1752.
- Bracha, H.S., Shults, G., Glick, S.D. y Kleinman, J.E. (1987). Spontaneous asymmetric circling behavior in hemi-Parkinsonism: a human equivalent of the lesioned-circling rodent behavior. *Life Sci.* 40: 1127-1130.
- Brailowsky, S., Knight, R.T., Blood, K., Scabini, D. (1986). Gamma aminobutyric acid-induced potentiation of cortical hemiplegia. *Brain Res.* 362: 322-330.
- Brailowsky, S. y Knight, R.T. (1987). Recovery from gaba-mediated hemiplegia in young and aged rats: effects of catecholaminergic manipulations. *Neurobiol. Aging.* 8: 441-447.
- Breakefield, X.O. (1989). Combining CNS transplantation and gene transfer. *Neurobiol. Aging.* 10: 647-648.
- Breese, G.R. y Taylor, T.D. (1970). Effect of 6-hydroxydopamine on brain norepinephrine and dopamine: evidence for selective degeneration of catecholaminergic neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 174: 413-420.
- Brooksbank, B.W.L. y Balazs, R. (1984). Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and lipoperoxidation in Down's syndrome fetal brain. *Devl. Brain Res.* 16: 37-44.
- Brundin, P., Isacson, O. y Bjorklund, A. (1985a). Monitoring of cell viability in suspensions of embryonic CNS tissue and its use as a criterion for intracerebral graft survival. *Brain Res.* 331: 251-259.
- Brundin, P., Nilsson, G.O., Gage, F.H. y Bjorklund, A. (1985b). Cyclosporin A increases survival of cross-species intrastriatal grafts of embryonic dopamine-containing neurons. *Exp. Brain Res.* 60: 204-208.
- Brundin, P., Isacson, O., Gage, F.H. y Bjorklund, A. (1986). Intracerebral grafting of dopamine-containing neuron cell suspensions: effects of mixing with target or non target cells. *Dev. Brain Res.* 24: 77-84.

- Bjorklund, A. (1991). Neural transplantation: an experimental tool with clinical possibilities. *Trends Neurosci.* 14(8): 319- 322.
- Blaschko, H. y Chrusciel, T.L. (1960). Motor impairment reduced by dopamine acting drugs. *J. Physiol.* 151: 272-284.
- Bloom, F.E. (1971) Fine structural changes in brain after intracisternal injection of 6-hydroxydopamine. En: Malforms, R. y Thoenen, H. (eds.) 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons. North Holland, Amsterdam. 135-146.
- Bohn, C.M., Cupit, L., Marciano, F. y Gash, D. (1987). Adrenal medulla grafts enhance recovery of striatal dopaminergic fibers. *Science.* 237: 913-916.
- Bolam, J.P.P., Freubd, T.F., Bjorklund, 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., Francis, C.M. y Henderson, Z. (1991). Cholinergic input to dopaminergic neurons in the substantia nigra: a double immunocytochemical study. *Neuroscience.* 41: 483-494.
- Bondareff, W. (1981). The neurobiological basis of age-related changes in neuronal connectivity. En: McGaugh, J. y Kiesler, S. (Eds.) Aging: biology and behavior. Academic Press. New York. 141-158.
- Bondy, S.C., Martin, J., Halsall, L.C. y McKee, M. (1989). Increased fragility of neuronal membranes with aging. *Exp. Neurol.* 103: 61-63.
- Bossi, S.R., Simpson, J.R. y Isacson, O. (1993). Age dependence of striatal neuronal death caused by mitochondrial dysfunction. *Neuroreport.* 4: 73-76.
- Boveris, A. y Chance, B. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: general properties and the effect of hyperbaric oxygen. *Biochem. J.* 134: 707-716.
- Boyce, S., Kelly, E., Reavill, C., Jenner, P. y Marsden, C.D. (1984). Repeated administration of N-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine to rats is not toxic to striatal neurons. *Biochem. Pharmacol.* 1: 1747-1752.
- Bracha, H.S., Shults, G., Glick, S.D. y Kleinman, J.E. (1987). Spontaneous asymmetric circling behavior in hemi-Parkinsonism: a human equivalent of the lesioned-circling rodent behavior. *Life Sci.* 40: 1127-1130.
- Brailowsky, S., Knight, R.T., Blood, K., Scabini, D. (1986). Gamma aminobutyric acid-induced potentiation of cortical hemiplegia. *Brain Res.* 362: 322-330.
- Brailowsky, S. y Knight, R.T. (1987). Recovery from gaba-mediated hemiplegia in young and aged rats: effects of catecholaminergic manipulations. *Neurobiol. Aging.* 8: 441-447.
- Breakefield, X.O. (1989). Combining CNS transplantation and gene transfer. *Neurobiol. Aging.* 10: 647-648.
- Breese, G.R. y Taylor, T.D. (1970). Effect of 6-hydroxydopamine on brain norepinephrine and dopamine: evidence for selective degeneration of catecholaminergic neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 174: 413-420.
- Brooksbank, B.W.L. y Balazs, R. (1984). Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and lipoperoxidation in Down's syndrome fetal brain. *Devl. Brain Res.* 16: 37-44.
- Brundin, P., Isacson, O. y Bjorklund, A. (1985a). Monitoring of cell viability in suspensions of embryonic CNS tissue and its use as a criterion for intracerebral graft survival. *Brain Res.* 331: 251-259.
- Brundin, P., Nilsson, G.O., Gage, F.H. y Bjorklund, A. (1985b). Cyclosporin A increases survival of cross-species intrastriatal grafts of embryonic dopamine-containing neurons. *Exp. Brain Res.* 60: 204-208.
- Brundin, P., Isacson, O., Gage, F.H. y Bjorklund, A. (1986). Intracerebral grafting of dopamine-containing neuron cell suspensions: effects of mixing with target or non target cells. *Dev. Brain Res.* 24: 77-84.

- Brundin, P., Strecker, R.E., Lindvall, O., Isacson, O., Nilsson, O.G., Barbin, G., Prochiantz, A., Forni, C., Nieoullon, A., Widner, H., Gage, F.H. y Bjorklund, A. (1987). Intracerebral grafting of dopamine neurons. Experimental basis for clinical trials in patients with Parkinson's disease. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) Cell and tissue transplantation into the adult brain. Ann. New York Acad. Sci. 495: 473-496.
- Buell, S.J. y Coleman, P.D. (1979). Dendritic growth in the aged human brain and failure of growth in senile dementia. *Science*. 206: 854-856.
- Buell, S.J. y Coleman, P.D. (1981). Quantitative evidence for selective dendritic growth in normal human aging but not in senile dementia. *Brain Res*. 214: 23-41.
- Bugiani, O., Salvarini, S., Perdelli, F., Mancardi, G.L. y Leonardi, A. (1978). Nerve cell loss with aging in the putamen. *Eur. Neurol*. 17: 286-291.
- Burns, R.S., Chiueh, C., Markey, S.P., Ebert, M.H., Jacowitz, D.M. y Kopin, I.J. (1983). A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in pars copmacta of the substantia nigra by MPTP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 80: 4546-4550.
- C -
- Calne, D.B. (1992). The free radical hypothesis in idiopathic parkinsonism: evidence against it. *Ann. Neurol*. 32: 799-803.
- Campbell, B.A., Krauter, E.E. y Wallace, J.E. (1980). Animal models of aging: sensory-motor and cognitive function in the aging rat. En: Stein, D.G. (Ed.) Psychology of aging: Problems and prospectives. Elsevier, Amsterdam. 201-213.
- Campbell, B.A., Baldessarini, R.J., Stroll, A., Teicher, M.H. y Maynard, P. (1984). Effect of age on behavioral responses and tissue levels of apomorphine in the rat. *Neuropharmacology*. 23: 725-730.
- Camps, M., Ambrosio, S., Reiz, J., Ballarin, M., Cutillas, B. y Mahy, N. (1993). Effect of age and cinnarizine treatment on brain dopamine receptors. *Pharmacology*. 46: 9-12.
- Cand, F. y Verdeti, J. (1989). Superoxide dismutase, glutation peroxidase, catalase, and lipid peroxidation in the mayor organs of the aging rats. *Free Rad. Biol. Med*. 7: 59-63.
- Cao, W., Carney, J.M., Duchon, A., Floyd, R.A. y Chevion, M. (1988). Oxygen free radicals involvement in ischemia and superfusion injury to brain. *Neurosci. Lett*. 88: 233-238.
- Carey, J.R., Liedo, P., Orozco, D. y Vaupel J.W. (1992). Slowing of mortality rates at older ages in large medfly cohorts. *Science*. 258: 457-460.
- Carlsson, A., Lindquist, M. y Magnusson, T. (1957). Motor induced deficits by reserpine in young rats. *Nature*. 180: 1200-1204.
- Carlsson, A., Gottfries, C.G., Sevennerholm, L., Adolfsson, R., Orelund, L., Winblad, B. y Aquilonius, S.M. (1980). Neurotransmitters in human brain analyzed post-mortem: changes in normal aging, senile dementia and chronic alcoholism. En: Rinne, U.K., Klingler, M. y Stamm, G. (Eds.). Parkinson's disease: current progress, problems and managment. Elsevier, Amsterdam. 121-133.
- Carlsson, A. (1981). Aging and brain neurotransmitters. *J. Neurochem*. 6: 67-81.
- Carlsson, M. y Carlsson, A. (1990). Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia- implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trends Neurosci*. 13 (7): 272-276.
- Carney, J.M., Starke-Reed, P.E., Oliver, C.N., Landum, R.W., Cheng, M.S., Wu, J.F. y Floyd, R.A. (1991). Reversal of age related increased in brain protein oxidation, decrease in enzyme activity, and loss in temporal and spatial memory by chronic administration of the spin trapping compound N-tert-butyl-phenylnitron. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 88: 3633-3636.
- Carp, J.S. y Anderson, R.J. (1979). Clorpromazine induced motor impairment in cats. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 10: 513-520.
- Carpenter, M.B. y McMasters, R.E. (1964). Lesions of the sustantia nigra in the rhesus monkey. *Am. J. Anat*. 114: 293-319.

- Carpenter, M.B., Nakano, K. y Kim, R. (1976). Nigrothalamic projections in the monkey demonstrated by autoradiographic techniques. *J. Comp. Neurol.* 165: 401-416.
- Carvey, P.M., McRae, A., Ptak, L.R., Kao, L.C., Lo, E.S., Goetz, C.G., Tanner, C.M., Penn, R.D. y Klawans, H.L. (1990). Disappearance of a putative DA-neuron antivody following adrenal medulla transplantation: relationship to a striatal derived DA neuron trophic factor. *Prog. Brain Res.* 82: 693-697.
- Cattaneo, E. y McKay, R. (1991). Identifying and manipulating neuronal stem cells. *Trends Neurosci.* 14: 338-340.
- Ceballos, I., Javoy-Agid, F., Hirsh, E.C., Dumas, S., Kamoun, P.P., Sinet, P.M. y Agid, Y. (1989). Localization of cooper-zinc superoxide dismutase mRNA in human hippocampus by in situ hybridization. *Neurosci. Lett.* 105: 41-46.
- Cederbaum, J.M. y Olanow, C.W. (1991). Dopamine sulfate in ventricular cerebrospinal fluid and motor function in Parkinson's disease. *Neurology.* 41: 1567-1570.
- Cepeda, C., Walsh, J.P., Hull, C.D., Buchwald, M.S. y Levine, M.S. (1989). Intracellular neurophysiological alterations in excitation in striatal neurons in aged rats. *Brain Res.* 498: 215-226.
- Cesaro, P. y Peschanski, M. (1992). Fetal neural transplants in patients with Parkinson's disease: one year follow up. *Med. Sci.* 8: 601-603.
- Chance, B., Sies, H. y Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* 59: 527-538.
- Chang, G.D. y Ramirez, V.D. (1988). A potent dopamine-releasing factor is present in high concentrations in the rat adrenal gland. *Brain Res.* 463: 385-389.
- Chiodo, L.A. y Berger, T.W. (1986). Interactions between dopamine and amino acid-induced excitation and inhibition in the striatum. *Brain Res.* 375: 198-203.
- Chiva, K., Trevor, A.J. y Castagnoli, N. (1984). Metabolism of the neurotoxic tertiary amine, MPTP, by brain monoamine oxidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 128: 1229-1232.
- Chiva, K., Trevor, A.J. y Castagnoli, N. (1985). Active uptake of MPP+, a metabolite of MPTP, by brain synaptosomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 128: 1229-1232.
- Choi, D.W. (1988). Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system. *Neuron.* 1: 623-634.
- Choi, D.W. (1990). Cerebral hypoxia: some new approaches and unanswered questions. *J. Neurosci.* 10(8): 2493-2501.
- Choy, C.R., Lee, J.S., Sung, K.W. y Song, J.U. (1990). Adrenal medullary transplantation for Parkinson's disease. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 54-55: 324-327.
- Chung, S.S., Kim, S.H. y Yoon, D.H. (1990). Stereotactic transplantation of adrenal medullary tissue in Parkinson's disease. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 54-55: 272-276.
- Colover, J. (1990). A brain transplant that works. *Lancet.* 335: 1042.
- Cimino, M., Curatola, M.G., Pezzoli, C., Stramentinoli, G., Vantini, G. y Algeri, S. (1983). Age-related modifications of dopaminergic and B-adrenergic receptor system: Restoration of normal activity by modifying membrane fluidity with S-adenosyl methionine. *Aging.* 23: 79-86.
- Cleeter, M.W.J., Cooper, J.M. y Schapira, A.H.V. (1992). Irreversible inhibition of mitochondrial complex I by 1-methyl-4-phenylpyridinium: Evidence for free radical involvement. *J. Neurochem.* 58: 786-789.
- Cohen, G. (1983). The pathobiology of Parkinson's disease: biochemical aspects of dopamine neuron senescence. *J. Neural. Trans. Supp.* 19: 89-103.

- Cohen, J.C., Hardy, P.A., Kucharczyk, W., Clauberg, M., Joshi, J.G., Vourlas, A., Dhar, M. y Henkelman, R.M. (1993). MR of human postmortem brain tissue: correlative study between T2 and assays of iron and ferritin in Parkinson and Huntington disease. *Am. J. Neurorad.* 14: 275-281.
- Collier, T.J., Gash, D.M. y Sladek, J.R. (1987). Norepinephrine deficiency and behavioral senescence in aged rats. transplanted locus ceruleus neurons as an experimental replacement therapy. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) Cell and tissue transplantation into the adult brain. Ann. N.Y. Acad. Sci. 495: 396-403.
- Connor, J.R., Diamond, M.C. y Johnson. (1980). Occipital cortical morphology of the rat: alterations with age and environment. *Exp. Neurol.* 68: 158-170.
- Corsini, G.U., Pintus, S., Chiueh, C.C., Weiss, J.F. y Kopin, I.J. (1985). MPTP neurotoxicity in mice is enhanced by pretreatment with diethyldithiocarbamate. *Eur. J. Pharmacol.* 119: 127-128.
- Costa, E. y Garattini, S. (1970). Amphetamines and related compounds. Raven Press. New York.
- Crain, S.M. (1987). CNS tissue culture analyses of trophic mechanisms in brain transplantation. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) Cell and tissue transplantation into the adult brain. Ann. N.Y. Acad. Sci. 495:138-152.
- Creese, I. y Iversen, S.D. (1975). The pharmacological and anatomical substrates of the amphetamine response in the rat. *Brain Res.* 83: 419-436.
- Creese, I., Burt, D.R. y Snyder, S.H. (1977). Dopamine receptor binding enhancement correlates with lesion-induced behavioral supersensitivity. *Science.* 197: 596-598.
- Creese, I. y Snyder, S.H. (1979). Nigrostriatal lesions enhance striatal 3H-apomorphine and 3H-spiroperidol binding. *Eur. J. Pharmacol.* 56: 277-281.
- Crossman, A.R. y Sambrook, M.A. (1978). Experimental torticollis in the monkey produced by unilateral 6-hydroxydopamine brain lesions. *Brain Res.* 149: 498-502.
- Crow, T.J. (1972). Catecholamine-containing neurons and electrical self-stimulation. I. A review of some data. *Psychol. Med.* 2: 414-421.
- Crutcher, M.D. y DeLong, M.R. (1984). Single cell studies of the primate putamen I: Functional organization. *Exp. Brain Res.* 53: 233-243.
- Cunningham, T.J., Sutilla, C.B. y Haun, F. (1987). Trophic effects of transplants following damage to the cerebral cortex. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) Cell and tissue transplantation into the adult brain. Ann. N.Y. Acad. Sci. 495: 138-152.
- Cunningham, L.A., Hansen, J.T., Short, M.P. y Bohn, M.C. (1991). The use of genetically altered astrocytes to provide nerve growth factor to adrenal chromaffin cells grafted into the striatum. *Brain Res.* 561: 192-202.
- Curtsinger, J.W., Fukui, H.H., Townsend, D.R. y Vaupel, J.W. (1992). Demography of genotypes: failure of the limited life-span paradigm in *Drosophila melanogaster*. *Science.* 258: 461-463.
- D -
- D'Abundo, G. (1913). Sulle manifestazioni di vitalita nei trapianti del tessuto nervoso. *Riv. Ital. Neuropat. Psichiat. Elettrotel.* 6: 145-152.
- Dahlstrom, A. y Fuxe, K. (1964). Evidence for the existence of monoamine-containing neuron in the central nervous system. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 236 (62): 5-55.
- Damier, P., Hirsh, E.C., Zhang, P., Agid, Y. y Javoy-Agid, F. (1993). Glutathione peroxidase, glial cells and Parkinson's disease. *Neurosci.* 52: 1-6.
- Das, G.D. y Altman, J. (1971). Transplanted precursors of nerve cells: their fate in the cerebellum of young rats. *Science.* 173: 637-638.
- Das, G.D. y Hallas, B.H. (1978). Transplantation of brain tissue in the brain of adult rats. *Experimentia.* 34: 1304-1306.

- Das, G.D., Hallas, B.H. y Das, K.G. (1980). Transplantation of brain tissue in the brain of rat. I. Growth characteristics of neocortical transplants from embryos of different ages. *Am. J. Anat.* 158: 135-145.
- Date, I., Felten, S.Y. y Felten, D.L. (1989). Exogenous GM1 gangliosides induce partial recovery of the nigrostriatal dopaminergic system in MPTP-treated young mice but not aging mice. *Neurosci. Lett.* 106: 282-286.
- Date, I., Felten, S.Y. y Felten, D.L. (1990a). Cografts of adrenal medulla with peripheral nerve enhance the survivability of transplanted adrenal chromaffin cells and recovery of the host nigrostriatal dopaminergic system in MPTP-treated young adult mice. *Brain Res.* 537: 33-39.
- Date, I., Felten, S.Y., Olschowka, J.A. y Felten, D.L. (1990b). Limited recovery of striatal dopaminergic fibers by adrenal medullary grafts in MPTP-treated aging mice. *Exp. Neurol.* 107: 197-207.
- Date, I., Asari, S., Nishimoto, A. y Felten, D. (1991). Cografts of adrenal medulla and peripheral nerve in mouse model of Parkinson's disease. *Neurol. Surg.* 19: 811-815.
- Davis, G.C., Williams, A.C., Markey, S.P., Ebert, M.H., Caine, E.D., Reichert, C.M. y Kopin, I.J. (1979). Chronic parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. *Psychiatry Res.* 1: 249-254.
- Davies, K.J.A. (1987). Protein damage and degradation by oxygen radicals. *J. Biol. Chem.* 262 (20): 9895-9901.
- Dean, R.L., Scozzafava, J., Goas, J.A., Regan, B., Beer, B. y Bartus, R.T. (1981). Age-related differences in behavior across the life span of the C57BL/65 mouse. *Exp. Aging Res.* 7: 427-451.
- DeBlasi, A. y Mennini, T. (1982). Selective reduction of one class of dopamine receptor binding sites in the corpus striatum of aged rats. *Brain Res.* 242: 361-364.
- De Ceballos, M.L., Boyce, S., Taylot, M., Jenner, P. y Marsden, C.D. (1987). Age-related decreases in the concentration of Met- and Leu-enkephalin and neurotensin in the basal ganglia of rats. *Neurosci. Lett.* 75: 113-117.
- Decombe, R., Rivol, J.P., Aunis, D., Abrois, N., Pescanski, M. y Herman, J.P. (1980). Importance of catecholamine release from the functional action of intrastriatal implants of adrenal medullary cells: pharmacological analysis an in vivo electrochemistry. *Exp. Neurol.* 107: 143-153.
- DeFeudis, F.V. (1990). Deprenyl therapy for Parkinson's disease: are oxygen free radicals involved. *Drug News Perspect.* 3: 40-41.
- Dela-Vadova, F., Fumagalli, F., Sacchetti, G., Racagni, G. y Brunello, N. (1992). Age-related variations in brain areas of two rat strains. *Mol. Brain Res.* 12 (4): 357-359.
- Del Conte, G. (1907). Einpflanzungen von embryohalem gewebe ins gehirn. *Beitr. Pathol. Anat. Allg. Phathol.* 42: 193-202.
- DeLong, M.R. y Georgopoulos, A.P. (1981). Motor functions of the basal ganglia. En Brookhart, J., Mountcastle, V.B., Brooks, V.B. y Geiger, S.R. (Eds.) *Handbook of Physiology.* American Physiological Society. 1017-1061.
- Demarest, K.T., Riegle, G.D. y Moore, K.E. (1980). Characteristic of dopaminergic neurons in aged male rats. *Neuroendocrinology.* 31: 222-227.
- Deniau, J.M. y Chevalier, G. (1985). Desinhibition as a basic process in the expression of striatal function II. The striato-nigral influence on thalamocortical cells of the ventromedial thalamic nucleus. *Brain Res.* 334: 227-233.
- Denman, C. (1990). Ethics of brain transplants. *Br. J. Psychiatry.* 157: 625.
- Devasagayam, T.P.A. (1989). Decreased peroxidative potential in rat brain microsomal fractions during aging. *Neurosci. Lett.* 103: 92-96.
- Dexter, D., Carter, C., Agid, F., Lees, A.J. y Jenner, P. (1986). Lipid peroxidation as caude of nigral cell death in Parkinsons dicease. *Lancet.* ii. 639-640.
- Dexter, D.T., Wells, F.R., Agid, F., Agid, Y., Lees, A.J., Janner, P. y Marsden, C.D. (1987). Increased nigral iron content in postmortem parkinsonian brain. *Lancet.* ii: 1219-1220.

- Dexter, D.T., Wells, F.R., Lees, A.J., Agid, F., Agid, Y., Jenner, P. y Marsden, C.D. (1989a). Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 52: 1830-1836.
- Dexter, D.T., Carter, C.J., Wells, F.R., Javou-Agid, F., Agid, Y. y Lees, A. (1989b). Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 52: 381-389.
- Dexter, D.T., Carayon, A., Vidailhet, M., Agid, F. y Agid, Y. (1990). Decreased ferritin levels in brain in Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 55: 16-20.
- Dexter, D.T., Carayon, A., Vidailhet, M., Ruberg, M., Agid, F., Agid, Y., Lees, A.J., Wells, F.R., Jenner, P. y Marsden, C.D. (1991a). Decreased ferritin levels in brain in Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 113: 234-243.
- Dexter, D.T., Carayon, F., Javoy-Agid, F., Agid, Y., Wells, F.R., Daniel, A.J., Lees, P., Jenner, P. y Marsden, C.D. (1991b). Alterations in the levels of iron, Ferritin and other trace metals in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. *Brain.* 114: 1953-1975.
- Divac, I., Fonnum, F. y Storm-Mathisen, J. (1977). High affinity uptake of glutamate in terminals of corticostriatal axons. *Nature* 266: 377-378.
- Dlunzen, D.E., McDermott, J.L. y Ramirez, V. (1989). The effect of L-DOPA upon in vitro dopamine release from the corpus striatum of young and old male rats. *Exp. Neurol.* 106: 259-264.
- Dlunzen, D.E., McDermott, J.L. y Ramirez, V. (1991). Changes in dopamine release in vitro from the corpus striatum of young versus aged rats as a function of infusion modes of L-DOPA, potassium, and amphetamine. *Exp. Neurol.* 112: 153-160.
- Doering, L.C. (1992). Peripheral nerve segments promote consistent long-term survival of adrenal medulla transplants in the brain. *Exp. Neurol.* 118: 253-260.
- Donzanti, B.A., Hite, J.F. y Yamamoto, B.K. (1993). Extracellular glutamate levels increase with age in the lateral striatum: potential involvement of presynaptic D-2 receptors. *Synapse.* 13: 376-382.
- Doucet, G., Murata, Y., Brundin, P., Bosler, O., Mons, N., Geffard, M., Quimet, C. y Bjorklund, A. (1989). Host afferents into intrastriatal grafts of ventral mesencephalon. *Restor. Neurol. Neurosci. Suppl.* 3rd Int. Symp. Neural Transplantation. 51.
- Drayer, B.P., Olanow, W., Burger, P., Johnson, G.A., Herfkens, R. y Reiderer, S. (1986). Parkinson Plus syndrome: diagnosis using high field MR imaging of brain iron. *Radiology.* 493-498.
- Drucker-Colín, R., Aguilar, R., Fernandez-Cancino, F., García-Hernández, F. y Bermudez, F. (1984). Functional restoration of circadian rhythms following suprachiasmatic nucleus transplant in the rat. *Brain Res.* 311: 353-357.
- Drucker-Colín, R., Madrazo, I., Ostrosky-Solis, F., Shkurovich, M., Franco, R. y Torres, C. (1988). Adrenal medullary tissue transplants in the caudate nucleus of Parkinson's patients. *Prog. Brain Res.* 78: 567-574.
- Duara, R., London, E.D. y Rapaport, S.I. (1985). Changes in structure and energy metabolism of the aging brain. En: Finch, C.E. y Schneider, E.L. (Eds). *Handbook of the biology of aging.* Vance Woodard Reinhold Co., New York. 595-616.
- Dubach, M. y German, D. (1990). Extensive survival of chromaffin cells in adrenal medulla "Ribbon" grafts in the monkey neostriatum. *Exp. Neurol.* 110: 167-180.
- Dunbar, G.L., Rylett, R.J., Schmidt, B.M., Sinclair, R.C. y Williams, L.R. (1993). Hippocampal choline acetyltransferase activity correlates with spatial learning in aged rats. *Brain Res.* 604 (1-2): 266-272.
- Dunn, E.H. (1917). Primary and secondary findings in a series of attempts to transplant cerebral cortex in albino rat. *J. Comp. Neurol.* 27: 565-582.

- Dunnett, S.B., Bjorklund, A., Stenevi, U. y Iversen, S.D. (1981a). Behavioral recovery following transplantation of substantia nigra in rats subjected to 6-OHDA lesions of the nigro striatal pathway. I. Unilateral lesions. *Brain Res.* 215: 147-161.
- Dunnett, S.B., Bjorklund, A., Stenevi, U. y Iversen, S.D. (1981b). Behavioral recovery following transplantation of substantia nigra in rats subjected to 6-OHDA lesions of the nigro striatal pathway. II. Bilateral lesions. *Brain Res.* 229: 457-470.
- Dunnett, S.B., Bjorklund, A., Schmidt, R.H., Stenevi, U. y Iversen, S.D. (1983a). Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions: V. Behavioral recovery in rats with bilateral 6-OHDA lesions following implantation of nigral cell suspensions. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 522: 39-47.
- Dunnett, S.B., Bjorklund, A., Schmidt, R.H., Stenevi, U. y Iversen, S.D. (1983b). Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. IV. Behavioral recovery in rats with unilateral 6-OHDA lesions following implantation of nigral cell suspensions in different forebrain sites. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 522: 29- 37.
- Dykens, J.A., Stern, A. y Trenkner, E. (1987). Mechanism of kainate toxicity to cerebellar neurons in vitro, is analogous to reperfusion tissue injury. *J. Neurochem.* 49: 1222-1228.
- E -
- Earle, K.M. (1968). Trace metals in parkinsonian brains. *J. Neurophatol. Exp. Neurol.* 27: 1-14.
- Ehringer, H. y Hornykiewicz, O. (1960). Verteilung von noradrenalin und dopamin (3-hydroxytyramin) im gehirn des menschen und ihr verhalten bei erkankungen des extrapyramidalen systems. *Klin. Wocheschr.* 38: 1236-1239.
- Emerich, D.F., Winn, S.R., Cristenson, L., Palmatier, M.A., Gentile, F.T. y Sanberg, P.R. (1992). A novel approach to neural transplantation in Parkinson's disease: use of polymer encapsulated cell therapy. *Neurosci. Biobehav. Res.* 16: 473-447.
- Engelhart, J.K., Morales, F.R., Yamuyu, J. y Chase, M.H. (1989). Cable properties of spinal cord motoneurons in adult and aged cats. *J. Neurol.* 61 (1): 194-201.
- Eriksdotter-Nilsson, M. y Olson, L. (1989). Growth of brain tissue grafts is dependent upon host age. *Mech. Ageing Dev.* 49: 1-22.
- Essman, W.B. y Wollman, S.B. (1989). Free radicals, central nervous system process and brain functions. En: Das, K.D. y Essman, W.B. (Eds.) *Oxygen radicals: systemic events and disease processes.* Karger, Switzerland. 172-191.
- F -
- Fahn, S. (1992). Fetal tissue transplants in Parkinson's disease. *New. Eng. J. Med.* 327: 1589-1590.
- Faraj, B.A., Camp, V.M. y Kutner, M. (1991). Interrelationship between activation of dopaminergic pathways and cerebrospinal fluid concentration of dopamine tetrahydroisoquinoline metabolite salsolinol in humans: preliminary findings. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 15: 86-89.
- Farooqui, A.A. y Horrocks, L.A. (1991). Excitatory amino acid receptors, neural membranes phospholipid metabolism and neurological disorders. *Brain Res. Rev.* 16: 171-191.
- Fazzini, E. (1992). Transplantation in the treatment of paralysis agitans (Parkinson disease). (1992). *J. Am. Osteopath. Assoc.* 92: 1255-1260.
- Fibiger, H. C., Carter, D.A. y Phillips, A.G. (1976). Decreased intracranial self-stimulation after neuroleptics or 6-hydroxydopamine: Evidence for mediation by motor deficits rather than by reduced reward. *Psychopharmacology.* 47: 21-27.
- Fibiger, H.C. (1978). Drugs and reinforcement mechanisms: A critical review of catecholamine theory. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 18: 37-56.
- 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.

- Fiandaca, M.S. (1991). Brain grafting for Parkinson's disease: experimental, clinical and immunological considerations. *Transplantation*. 51: 549-546.
- Finch, C.E. (1973). Catecholamine metabolism in the brains of aging male mice. *Brain Res.* 52: 261-276.
- Finch, C.E. y Morgan, D.G. (1990). RNA and protein metabolism in the aging brain. *Ann. Rev. Neurosci.* 13: 75-87.
- Finch, C.E. (1993). Neuron atrophy during aging - programmed or sporadic. *Trends Neurosci.* 16(3): 104-110.
- Finger, S. y Dunnett, S. (1989). Nimodipine enhances growth and vascularization of neural grafts. *Exp. Neurol.* 104: 1-9.
- Flerkó, B. y Szentágothai, J. (1957). Oestrogen sensitive neurons structure in the hypothalamus. *Acta. Endocrinol.* 26: 121-127.
- Flood, D.G., Buell, S.J., Defiore, D.H., Horwitz, G.J. y Coleman, P.D. (1985). Age-related dendritic growth in dentate gyrus of human brain followed regression in the oldest old. *Brain Res.* 345: 366-368.
- Floyd, R.A., Zaleska, M.M. y Harmon, H.J. (1984). Possible involvement of iron and oxygen free radicals in aspects of aging brain. En: Armstrong, A. (Ed.) *Free radicals in Molecular Biology, aging and disease*. Raven, New York. 143-161.
- Fochtmann, L. (1988). A mechanism for the efficacy of ECT in Parkinson's disease. *Convulsive Ther.* 4: 321-327.
- Foix, C. y Nicolesco, J. (1925). *Les noyaux gris centraux et la region mesencephalo-sous-optique*. Paris: Masson. Citado en: Hirsh, E.C., Graybiel, A.M. y Agid, Y. (1989). *Acta. Neurol. Scand.* 126: 19-22.
- Fornaguera, J., Schwarting, R.K.W., Boix, F. y Huston, J.P. (1993). Behavioral indices of moderate nigro striatal 6-hydroxidopamine lesion: a preclinical Parkinson's model. *Synapse.* 13: 179-185.
- Forno, L.S., DeLanney, L.E., Irwin, I. y Langston, J.W. (1986). Neurophathology of MPTP-treated monkeys: comparison with neurophathology of human idiopathic Parkinson's disease. En: Markey, S.P., Castagnoli, N., Trevor, A. y Kopin, I.J. (Eds.) *MPTP: a neurotoxin producing a Parkinsonian syndrome*. Academic Press, New York. 119-125.
- Forno, L.S. y Langston, J.W. (1991). Unfavorable outcome of adrenal medullary transplant for Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 81: 691-694.
- Fouriezos, G. y Wise, R.A. (1976). Pimozide-induced extinction of intracranial self-stimulation: response patterns rule out motor or performance deficits. *Brain Res.* 103: 377-380.
- Frank, F., Sturiale, C., Gaist, G. y Manetto, V. (1988). Adrenal medullary autograft in human brain for Parkinson's disease. *Acta Neurochir.* 94: 162-163.
- 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 behavioural, biochemical and histochemical studies. *Ann. Neurol.* 8: 510-519.
- Freed, W.J., Morihisa, J.M., Spoor, E., Hoffer, B.J., Olson, L., Sieger, A. y Wyatt, R.J. (1981). Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behavior. *Nature.* 229: 351-352.
- Freed, W.J., Ko, G.N., Niehoff, D.L., Kudar, M.J., Hoffer, B.J., Olson, L., Cannon-Spoor, H.E., Morishia, J.M. y Wyatt, R.J. (1983a). Normalization of spiroperidol binding in the denervated rat striatum by homologous graft of substantia nigra. *Science.* 222: 937-939.
- Freed, W.J., Karoum, F., Spoor, E.H., Morihisa, J.M., Olson, L. y Wyatt, R.J. (1983b). Catecholamine content of intracerebral adrenal medulla grafts. *Brain Res.* 269: 184-189.

- Freed, W.J., Olson, L., Ko, G.N., Morisha, J.M., Niehoff, D., Stromberg, I., Kuhar, M., Hoffer, B.J. y Wyatt, R.J. (1985). Intraventricular substantia nigra and adrenal medulla grafts: Mechanisms of action and (3H) spiroperidol autoradiography. En: Bjorklund, A. y Stenevi, U. (Eds.) Neural grafting in the mammalian CNS. Elsevier, Amsterdam. 471-482.
- Freed, W.J., Patel, V.U. y Geller, M.H. (1986a). Properties of PC12 pheocromocytoma cells transplanted to the adult rat brain. *Exp. Brain Res.* 63: 557-566.
- Freed, W.J., Cannon-Spoor, E. y Krauthamer, E. (1986b). Intrastratial adrenal medulla grafts in rats. Long-term survival and behavioral effects.
- 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.
- Freed, W.J. (1993). Neural transplantation. Prospects for clinical use. *Cell Transpl.* 2: 13-31.
- Freed, C.R., Breeze, R.E., Rosenberg, N.L., Schneck, S.A., Kriek, E., Qi, J.X., Lone, T., Zhang, Y.B., Snyder, J.A., Wells, T.H., Ramig, L.O., Thompson, L., Mazziola, J.C., Huang, S.C., Grafton, S.T., Brooks, D., Sawle, G., Schroter, G., Ansari, A.A. (1992a). *New Eng. J. Med.* 327: 1549-1555.
- Freed, C.R., Rosenberg, N.L., Scheck, S.A. y Breeze, R.E. (1992b). Improved drug responsiveness following fetal tissue implant for Parkinson's disease. *Neurochem. Int.* 20(Suppl): 321- 327.
- Freed, C.R., Breeze, R.E., Rosenberg, N.L. y Schneck, S.A. (1993). Embryonic dopamine cell implants as a treatment for the 2nd phase of Parkinson's disease. Replicating failed nerve terminals. *Adv. Neurol.* 60: 712-728.
- Freeman, G.B. y Gibson, G.E. (1987). Selective alterations of mouse brain neurotransmitter release with age. *Neurobiol. Aging.* 8: 147-152.
- Freeman, A.S., Kelland, M.D., Rouillard, C. y Chiodo, L.A. (1989). Electrophysiological characteristics and pharmacological responsiveness of midbrain dopaminergic neurons of aged rat. *J. Pharmacol. Exp. Thera.* 249 (3): 790-797.
- Freeman, T.B., Olanow, G.W., Madrazo, I. y Franco-Bourland, R. (1991). Fetal homotransplants in the treatment of Parkinson's disease. *Arch. Neurol.* 48: 900-902.
- Frei, B., Strocker, R. y Ames, B.N. (1992). Small molecule antioxidant defenses in human extracellular fluids. En: Scandalios, J.G. (Ed.) Molecular biology of free radical Scavenging systems. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 23-45.
- Freund, T.F., Bolam, J.P., Bjorklund, A., Stenevi, U., Dunnett, S.B., Powel, J.F. y Schmidt, A.D. (1985). Efferent synaptic connections of grafted dopaminergic neurons reinnervating the host neostriatum: a tyrosine-Hydroxylase immunocytochemical study. *J. Neurosci.* 5: 603-616.
- Friedemann, M.N. y Gerhardt, G.A. (1992). Regional effects of aging on dopaminergic function in the fisher-344 rat. *Neurobiol. Aging.* 13: 325-332.
- Frolkis, V.V., Martynenko, O.A. y Zamostyan, V.P. (1976). Aging of the neuromuscular apparatus. *Gerontologia.* 22: 244-279.
- Frotscher, M., Buck, E., Mannsfeld, B. y Wenzel, J. (1970). Zur frage der regeneration des cortex cerebri nach replantation eines cortex-abschnittes bei rattus norvegicus. *Hirnforsch.* 33: 123-133.
- Fujita, T. (1986). Aging and calcium. *Miner. Electrolyte. Metab.* 12: 149-156.
- Fujita, T. (1988). Calcium aging, and diseases. En: Morad, Nayler, Kazad y Schramm (Eds.) The calcium channel: structure, function and implications. Springer-Verlag, Berlin. 635-639.
- G -
- Gage, F.H., Dunnett, S.B., Stenevi, U. y Bjorklund, A. (1983a). Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions VIII. Survival and growth of implants of nigral and septal cell suspensions in intact brains of aged rats. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 522: 67-75.

- Gage, F.H., Dunnett, S.B., Stenevi, U. y Bjorklund, A. (1983b). Aged rats: recovery of motor impairments by intrastriatal nigral grafts. *Science*. 221: 966-969.
- Gage, F.H., Bjorklund, A., Stenevi, U., Dunnett, S.B. y Kelly, P.A.T. (1984a). Intrahippocampal septal grafts ameliorate learning impairments in aged rats. *Science*. 225: 533-536.
- Gage, F.H., Dunnett, S.B. y Bjorklund, A. (1984b). Spatial learning and motor deficits in aged rats. *Neurobiol. Aging*. 5: 43-48.
- Gage, F.H. y Bjorklund, A. (1986). Cholinergic septal grafts into the hippocampal formation improve spatial learning and memory in aged rats by an atropine-sensitive mechanism. *J. Neurosci*. 6(10): 2837-2847.
- Gage, F.H., Kawada, M.D. y Fisher, L.J. (1991). Genetically modified cells: Applications for intracerebral grafting. *Trends Neurosci*. 14 (8): 328-333.
- García Flores, E., Decanini, H.L., Florez Salazar, M., Lozano Morales, E., Zuñiga, M.C. y Martínez Campos, A. (1990). Is autologous transplant of adrenal medulla into the striatum an effective therapy for Parkinson's disease. *Prog. Brain Res*. 82: 643-655.
- García-Hernández, F., Aguilar, R. y Drucker-Colín, R. (1987). Transplantation of fetal occipital cortex to the third ventricle of SCN-lesioned rats induces an endogenous oscillation only in constant darkness. *Brain Res*. 418: 193-197.
- García-Hernández, F., Zhou, F.C. y Azmitia, E.C. (1989). Laminine injections guide fiber growth of transplanted and regenerating neurons in adult but not in aged brain. *Soc. Neurosci. Abst.* 15: 1370.
- García-Muñoz, M., Young, S.J. y Groves, P.M. (1991). Terminal excitability of corticostriatal pathway. I. Regulation by dopamine receptor stimulation. *Brain Res*. 551: 195-206.
- Gash, D. y Sladek, J.R. (1980). Vasopressin neurons grafted into Brattleboro rats: viability and activity. *Peptides*. 1: 11-14.
- Gavrillov, L.A. y Gavrillova, N.S. (1993). Fruit fly aging and mortality. *Science*. 260: 1565.
- Georgopoulos, A.P., DeLong, M.R. y Crutcher, M.D. (1984). Relations between parameters of step-tracking movement and single cell discharge in the globus pallidus and subthalamic nucleus of the behaving monkey. *J. Neurosci*. 3: 1586-1598.
- Gerfen, C.R. (1984). The neostriatal mosaic: compartmentalization of cortico striatal input and striatonigral output systems. *Nature*. 311: 461-463.
- Gerfen, C.R. (1992). The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization in the basal ganglia. *Ann. Rev. Neurosci*. 15: 285-320.
- Gerhardt, G.A., Palmer, M.R. y Granholm, A.C. (1991). Age induced changes in single locus coeruleus brain transplants grown in oculo: an in vivo electrochemical study. *Neurobiol. Aging*. 12 (5): 487-494.
- Gerlach, M., Reiderer, P., Przuntek, H. y Youdim, M.B.H. (1991). MPTP mechanisms of neurotoxicity and their implications for Parkinson's disease. *Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharmacol*. 208: 273-286.
- Ghersi-Egea, J.F. Mim, A. y Siet, G. (1988). A new aspect of the protective functions of blood-brain barrier: Activities of four drug metabolizing enzymes in isolated rat brain microvessels. *Life Sci*. 42: 2515-2523.
- Gibb, W.R. y Lees, A.J. (1991). Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal subpopulations of the substantia nigra and differential cell death in aging and Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 54 (5): 388-396.
- Gibb, W.R. (1991). Neurophatology of the substantia nigra. *Eur. Neurol*. 31 suppl: 1: 48-59.
- Gibson G.E. y Peterson, C. (1987) Calcium and the aging nervous system. *Neurobiol. Aging*. 8: 329-343.
- Gildelberg, P.L., Pettigrew, L.C., Marell, R., Butler, I., Conklin, R., Katz, J. y DeFrance, J. (1990). Transplantation of adrenal medullary tissue to caudate nucleus using stereotactic techniques. *Stereotactic. Funct. Neurosurg*. 54-55: 268-271.
- Giorgi, O., Calderini, G., Toffano, G. y Biggio, G. (1987). D-1 dopamine receptors labelled with 3H-SCH 23390: Decrease in the striatum of aged rats. *Neurobiol. Aging*. 8: 51-54.

- Gless, P. (1955). Studies of cortical regeneration with special reference to cerebral implants. En: Windle, W.F. (Ed.) *Regeneration in the central nervous system*. Springfield. 94-111.
- Glover, W.E. (1982). The aminopyridines. *Gen. Pharmacol.* 13: 259-283.
- Goetz, C.G., Olanow, C.W., Koller, W.C., Penn, R.D., Cahill, D., Moratntz, R., Stebbins, G., Tanner, C.M., Klawans, H.L., Shannon, K.M., Comella, C.L., Witt, T., Cox, C., Waxman, M. y Gauger, L. (1989). Multicenter study of autologous adrenal medullary transplantation to the corpus striatum in patients with advanced Parkinson's disease. *New Eng. J. Med.* 320: 337- 341.
- Goetz, C.G., Stebbins, G., Klawans, H.L., Koller, W.C., Grossman, R.G., Bakay, R.A.E., Penn, R.D., Tanner, C.M., Shannon, K.M., Comella, C.L., Gilley, D.W., Wilson, R.S., Witt, T., Liberman, A., Fazzini, E., Ransohoff, J., Berczeller, P., Brous, P. y Eng, K. (1991). United Parkinson Foundation neurotransplantation registry on adrenal medullary transplants: Presurgical, and 1- and 2-year follow up. *Neurology.* 41: 1719-1722.
- Goetz, C.G., De-Long, M.R., Penn, R.D. y Bakay, R.A.E. (1993). Neurosurgical horizons in Parkinson's disease. *Neurology.* 43: 1- 7.
- Goldman-Rakic, P.S. y Brown, R.M. (1981). Regional changes of monoamines in cerebral cortex and subcortical structures of aging rhesus monkeys. *Neuroscience.* 6: 177-187.
- Goldman-Rakic, P.S. y Selemon, D.L. (Eds.) (1990). Basal Ganglia Researc. *Trends Neiorosci.* 13: 241-307.
- Gonzales, R.A., Brown, L.M., Jones, T.W., Trent, R.D., Westbook, S.L. y Leslie, C.S. (1991). N-methyl-D-aspartate mediated responses decrease with age in Fisher 344 rat brain. *Neurobiol. Aging.* 12 (3): 219-225.
- Goodrick, C.L. (1975). Behavioral diferences in young and aged mice; Strain differences for activity measures, operant learning, sensory discrimination, and alcohol preference. *Exp. Aging Res.* 1: 191-207.
- Gopinath, G., Shetty, A.K. y Tandon, P.N. (1991). Ageing changes in the transplants of fetal substantia nigra grafted to striatum of adult rat. *Neuroscie.* 40 (2): 429-443.
- Gottfries, C.G. (1990). Neurochemical aspects on aging and disease with cognitive impairment. *J. Neurosci. Res.* 27: (4): 541-547.
- Govoni, S., Loddo, P., Spano, P.F. y Trabucchi, M. (1977). Dopamine receptor sensitivy in brain and retina of rats during aging. *Brain Res.* 138: 565-570.
- Govoni, S., Spano, P.F. y Trabucchi, M. (1978). [³H] Haloperidol and [³H] spiroperidol binding in rat striatum during aging. *J. Pharm. Pharmacol.* 30: 448-449.
- Graham, D.Y., Tiffany, S.M., Bell, W.R. y Gutknecht, W.F. (1978). Autoxidation versus covalent binding of quinones as the mechanism of toxicity of dopamine, 6-hydroxydopamine, and related compounds toward C1300 neuroblastoma cells in vitro. *Mol. Pharmacol.* 14: 644-653.
- Graybiel, A.M., Pickel, V.M., Joh, T.J., Reis, D.J. y Ragsdale, C.W. (1981). Direct demonstration of a correspondence between dopamine islands and acetylcholinesterase patches in the developing striatum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77: 1214-1219.
- Graybiel, A.M. y Ragsdale, C.W. (1983). Biochemical anatomy of the striatum. En: Emson, P.C. (Ed.) *Chemical Neuroanatomy*. Raven Press. 427-504.
- Greene, H.S.N. y Arnold, H. (1945). The homologous and heterologous transplantation of brain and brain tumors. *J. Neurosurg.* 2: 315-328.
- Greenwood, C.E., Tatton, W.G., Seniuk, N.A. y Biddle, F.G. (1991). Increased dopamine synthesis in aging substantia nigra neurons. *Neurobiol. Aging.* 12 (5): 557-565.
- Greeffiths, P.D. y Grossman, A.R. (1993). Distribution of iron in the basal ganglia and neocortex in postmortem tissue in Parkinson's disease and Alzheimers disease. *Dementia.* 4: 61-65.

- Grossman, A., KuLull, W.A., Jinneman, J.C., Bird, T.D., Villacres, E.C., Larson, E.B. y Rabinovitch, P.S. (1993). Intracellular calcium response is reduced in CD4+ lymphocytes in Alzheimer's disease and in older persons with Down's syndrome. *Neurobiol. Aging*. 14: 177-185.
- Groves, P.M. (1983). A theory of the functional organization of the neostriatum and the neostriatal control of voluntary movements. *Brain Res. Rev.* 5: 109-132.
- Gutteridge, J.M.C. (1983). Antioxidant properties of caeruloplasmin toward iron- and copper-dependent oxygen radical formation. *FEBS Lett.* 157: 37-45.
- Gutmann, E. y Hanzlikova, V. (1972). Basic mechanisms of aging in the neuromuscular system. *Mech. Ageing Dev.* 1: 327-349.
- H -
- Hall, E.D. y Braughler, J.M. (1989). Central nervous system trauma and stroke. II Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. *Free Rad. Biol. Med.* 6: 303-313.
- Halasz, B., Pupp, L. y Uhlarik, S. (1962). Hypophysiotrophic area in the hypothalamus. *J. Endocrinol.* 25: 147-159.
- Halliwell, B. y Gutteridge, J.M.C. (1989a). Free radicals in biology and medicine, 2nd edition. Clarendon Press, Oxford.
- Halliwell, B. (1989b). Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. *Acta. Neurol. Scand.* 126: 23-33.
- Halliwell, B. y Gutteridge, J.M.C. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch. Biochem. Biophys.* 280 (1): 1-8.
- Halliwell, B. y Aruoma, O.I. (1992). DNA damage by oxygen-derived species: its mechanism, and measurement using chromatographic methods. En: Scandalios, J.G. (Ed). *Molecular Biology of free radical scavenging systems*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1-22.
- Hallman, H., Lange, J., Olson, L., Stomberg, I. y Jonsson, G. (1985). Neurochemical and histochemical characterization of neurotoxic effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine on brain catecholamine neurons in the mouse. *J. Neurochem.* 44: 117-127.
- Han, Z., Kuyatt, B.L., Kochman, K.A., DeZouza, E.B. y Roth, G.S. (1989). Effect of aging on concentrations of D2-receptor-containing neurons in rat striatum. *Brain Res.* 489: 299-307.
- Hansen, J.T., Kordower, J.H., Fiandaca, M.S., Jiao, S.S., Notter, M.F. y Gash, D.M. (1988). Adrenal medullary autografts into the basal ganglia of cebus monkeys: graft viability and fine structure. *Exp. Neurol.* 102: 65-75.
- Hantraye, P., Loc'h, C., Tacke, U., Ricke, D., Stulzajt, O., Doudet, D., Guibert, B., Naquet, R., Maziere, B. y Maziere, M. (1986). "In vivo" visualization by positron emission tomography of the progressive striatal dopamine receptor damage occurring in MPTP-intoxicated non-human primates. *Life Sci.* 39: 1375-1382.
- Hansen, J.T. y Gash, D.M. (1991). Functional aspects of Mammalian neural transplants. *Crit. Rev. Neurobiol.* 6: 79-98.
- Hara, H., Onodera, H., Kato, H. y Kogure, K. (1992). Effects of aging on signal transmission and transduction systems in the gerbil brain: morphological and autoradiographic study. *Neuroscience.* 46: 475-488.
- Hargraves, R. y Freed, W.J. (1986). Chronic intrastriatal dopamine infusions in rats with unilateral lesions of the substantia nigra. *Life Sci.* 40: 959-966.
- Harman, D. (1955). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. Univ. Calif. Rad. Lab. Report No 3078. Citado en: Harman, D. (1987). The free radical theory of aging. En Warner, H.R. (Ed). *Modern theories of aging*. Raven Press, Ney York. 81-87.
- Harman, D. (1956). A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 11: 298-300.
- Harman, D. (1957). Prolongation of the normal life span by radiation protection chemicals. *J Gerontol.* 12: 257-263.

- Harman, D. (1981). The aging process. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 78 (11): 7124-7128.
- Harman, D. (1987). The free radical theory of aging. En: Warner, H.R. (Ed). *Modern biological theories of aging.* Raven Press. New York. 81-87.
- Harman, D. (1991). The aging process: mayor risk factor for disease and death. *Prpc. Natl. Acad. Sci.* 88: 5360-5372.
- Harrison, W.W., Netsky, M.G. y Brown, M.D. (1988). Trace elements in human brain: copper, zinc, iron, and magnesium. *Clin. Chemica Acta.* 21: 55-60.
- Harrison, P.M., Banyard, S.H., Hoare, R.J., Russel, S.M., Treffry, A. (1977). The structure and function of ferritin. En: Porter, R. y Fitzsimons, D.W. (Eds). *Iron metabolism.* Ciba Foudation simposium 51. Amsterdam ans Oxford. Elsevier. 19-40.
- Hartmann, H., Eckert, A. y Muller, W.E. (1993). aging enhances the calcium sensitivity of central neurons of the mouse as an adaptative response to reduced free intracellular calcium. *Neurosci. Lett.* 152: 181-184.
- Hassler, R. (1938). Zur pathologie der paralysis Agitans und des postenzephalitischen parkinsonimus. *J. Psychol. Neurol.* 48: 387- 476. Citado en: Hirsh, E.C., Graybiel, A.M. y Agid, Y. (1989). *Acta. Neurol. Scand.* 126: 19-22.
- Hattori, T. y Fibiger, H.C. (1982). On the use of lesions of afferents to localize neurotransmitter receptor sites in the striatum. *Brain Res.* 238: 245-250.
- Hayflick, L. (1985). Theories of biological aging. *Exp. Gerontol.* 20: 145-169.
- Hedreen, J.S. y Chalmers, M.P. (1972). Neuronal degeneration in rat brain indued by 6-hydroxydopamine: a historical and biochemical study. *Brain Res.* 47: 1-36.
- 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.
- Hefti, F., Hartikka, J. y Schlumpf, M. (1985). Implantation of PC12 cells into the corpus striatum of rats with lesions of the dopaminergic nigrostriatal neurons. *Brain Res.* 348: 283-288.
- 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.
- Heikkila, R.E., Hess, A. y Duvoisin, R.C. (1984). Dopamine neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in mice. *Science.* 224: 1451-1453.
- Heikkila, R., Hess, A. y Duvoisin, R.C. (1985). Dopaminergic neurotoxicity of MPTP in the mouse: Relationship between monoamino oxidase, MPTP, metabolism and neurotoxicity. *Life Sci.* 36: 231-236.
- Heimer, L., Alheid, G.F. y Zaborszky, L. (1985). Basal Ganglia. En: Paxinos, G. (Ed.) *The rat nervous system.* Academic Press. N.Y. pp. 37-86.
- Henry, J.M. y Roth, G.S. (1986). Modulation of striatal membrane fluidity: effects on age related differences in dopamine receptor concentrations. *Life Sci.* 39 (14): 1223-1229.
- Henry, J.M., Filburn, C.R., Joseph, J.A. y Roth, G.S. (1986). Effect of aging on striatal dopamine receptor subtypes in Wistar rats. *Neurobiol. Aging.* 7: 357-361.
- Henry, J.M., Joseph, J.A., Kochman, K. y Roth, G.S. (1987). Effect of aging on striatal dopamine receptors subtype recovery following N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline blockade and relation to motor function in Wistar rats. *Brain Res.* 418: 334-342.
- Henschen, A. y Goldstein, M. (1990). Expression of tyrosine hydroxylase like immunorectivity in cell bodies in intraocular spinal cord grafts: a comparison with classical Flack-Hillarp histochemistry. *J. Chem. Neuroanat.* 3: 77-83.
- Hernández-Lopez, S., Gongora-Alfaro, J.L., Martinez-Fong, D. y Acevez, J. (1992). A cholinergic input to the substantia nigra pars compacta increases striatal dopamine metabolism measured by in vivo voltametry. *Brain Res.* 598: 114-120.

- Herrera- Marschitz, M., Stromberg, I., Olson, D., Ungerstedt, U. y Olson, L. (1984). Adrenal medullary implants in the dopamine-denervated rat striatum. II. acute behavior as a function of graft amount and localization and its modulation by neuroleptics. *Brain Res.* 297: 53-61.
- Hess, E.J., Bracha, S., Kleinman, J.E. y Creese, I. (1987). Dopamine receptor subtype imbalance in schizophrenia. *Life Sci.* 40: 1497-1497.
- Heumann, R., Korsching, S., Bandtlow, C. y Thoenen, H. (1987). Changes of nerve growth factor synthesis in nonneuronal cells in response to sciatic nerve transection. *J. Cell Biol.* 104: 1623-1631.
- Hill, J.M. y Switzer, R.C. (1984). The regional distribution and cellular localization of iron in the rat brain. *Neuroscience.* 11: 549-556.
- Hill, J.M. (1988). Regional distribution of iron in the human and rat brain. En: Youdim, M.B.H. (Ed). *Brain Iron: neurochemical and behavioral aspects.* London. Taylor and Francis. 1-24.
- Hinds, J.W. y McNelly, N.A. (1977). Gird of the rat olfactory bulb: Growth and atrophy of constituents and changes in size and number of mitral cells. *J. Comp. Neurol.* 171: 345-368.
- Hinds, J.W. y McNelly, N.A. (1981). Aging of the rat olfactory bulb: Correlation of changes in the olfactory epithelium and olfactory bulb. *J. Comp. Neurol.* 203: 341-342.
- Hirsch, E.C., Graybiel, A.M. y Agid, Y. (1989). Selective vulnerability of pigmented dopaminergic neurons in parkinsons disease. *Acta Neurol. Scand.* 126: 19-22.
- Hirsch, E.C., Duyckaerts, C., Javoy-Agid, F., Hauw, J.J. y Agid, Y. (1990). Does adrenal graft enhance recovery of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 27: 676-682.
- Hirsch, E.C., Brandel, J.P., Galle, P., Javoy-Agid, F. y Agid, Y. (1991). Iron and aluminum increase in the sustantia nigra of patients with Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 56: 446-451.
- Hirsch, E.C. (1992). Why are nigral catecholaminergic neurons more vulnerable than other cells in Parkinsons disease. *Ann. Neurol. Suppl.* 32: 88-93.
- Hirschorn, I.D., Makman, H.D. y Sharpless, N.S. (1982). Dopamine receptor sensitivity following nigrostriatal lesions in aged rats. *Brain Res.* 234: 257-368.
- Hitchcock, E.R., Kenny, B.G., Clough, C.G., Huges, R.C., Henderson, B.T.H. y Delta, A. (1990). Stereotactic implantation of fetal mesencephalon. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 54-55: 282-289.
- Hoffer, B., Rose, G., Stromberg, I. y Olson, L. (1985). Demonstration of monoamine release from transplanted-reinnervated caudate nucleus by in vivo electrochemical detection. En: Bjorklund, A. y Stenevi, U. (Eds.) *Neural Grafting in the Mammalian CNS.* Elsevier, Amsterdam. 437-447.
- Hoffer, B. y Olson, L. (1990). Ethical issues in brain cell transplantation. *Trends Neurosci.* 14(8): 382-388.
- Hollerman, J.R. y Grace, A.A. (1990). The effects of dopamine-depleting brain lesions on the electrophysiological activity of rat substantia nigra dopamine neurons. *Brain Res.* 533: 203-212.
- Hong, J.S., Yoshikawa, K., Kanamatsu, T. y Sabol, S.L. (1985). On the location of methionine enkephalin neurons in rat striatum. *Fed. Proc.* 44: 2535-2540.
- Horellou, P., Marlier, L., Privat, A. y Mallet, J. (1990). Behavioral effect of engineered cells that synthesize l-dopa or dopamine after grafting into the rat neostriatum. *Eur. J. Neurosci.* 2: 116-119.
- Horellou, P., Lundberg, C., Le-Bourdelle, B., Victorin, K., Brundin, P., Kalen, P., Bjorklund, A. y Mallet, J. (1991). Behavioural effects of genetically engineered cells releasing DOPA and dopamine after intracerebral grafting in rat model of Parkinson's disease. *J. Physiol.* 85: 158-170.
- Hornykiewicz, O. (1982). Brain neurotransmitter changes in Parkinson's disease. En: Marsden, C.H. y Fahn, S. (Eds.) *Movement disorders.* Butterworth Scientific, London. 41-63.
- Hornykiewicz, O. (1983). Dopamine changes in the aging human brain: Functional considerations. *Aging.* 23: 9-14.

- Hornykiewicz, O. (1992). Mechanisms of neuronal loss in Parkinson's disease: neuroanatomical-biochemical perspective. *Clin. Neurol. Neurosci. Suppl.* 94: 9-11.
- Horvat, J.C. (1966). Comparaison des reactions regeneratives provoquées dans le cerveau et dans la cervelet de la souris par des greffes tissulaires intraraciales. *Bull. Assoc. Anat.* 51: 487-499.
- Hoover, J.E. y Strick, P.L. (1993). Multiple output channels in the basal ganglia. *Science.* 259: 819-821.
- Huang, H.H., Kissane, J.Q. y Hawrylewicz, E.J. (1987). Restoration of sexual function and fertility by fetal hypothalamic transplants in impotent aged male rats. *Neurobiol. Aging.* 8: 465-472.
- Huang, H.H. (1988). Rejuvenation of the aging hypothalamic-pituitary axis with fetal hypothalamic graft. *Interdiscipl. Topics Geront.* 24: 141-149.
- Hurtig, H., Joyce, J., Sladek, J.R. y Trojanowski, J.Q. (1989). Postmortem analysis of adrenal-medulla-to-caudate autograft in a patient with Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 25: 607-614.
- Hyttel, J. (1987). Age related decrease in the density of dopamine D1 and D2 receptors in corpus striatum of rats. *Pharmac. Toxic.* 61: 126-129.
- Hyttel, J. y Amt, J. (1987). Characterization of binding of 3H-SCH 23390 to dopamine D-1 receptors. Correlation to other D-1 and D-2 measures and effect of selective lesions. *J. Neural. Trans.* 68: 171-189.
- Hyttel, J. (1989). Parallel decrease in density of dopamine D1 and D2 receptors in corpus striatum of rats from 3 to 25 months of age. *Pharmacol. Toxicol.* 64: 55-57.
- I -
- Iacono, R. P., Tang, Z.S., Mazziota, J.C., Frauton, S y Hoehn, M. (1992). Bilateral fetal grafts for Parkinson's disease: 22 months results. *Stereotactic. Funct. Neurosurg.* 58: 84-87.
- Inglefield, J.R. y Richfield, E.K. (1992). Preservation of the density of the dopamine uptake complex in aging Fischer 344 rat brain. *Neurobiol. Aging.* 13: 383-391.
- Ingram, D.K., London, E.D., Reynolds, M.A., Waller, S.B. y Goodrick, C.L. (1981). Differential effects of age on motor performance in two mouse strains. *Neurobiol. Aging.* 2: 221-227.
- Ingram, D.K., Reynolds, M. y Goodrick, C. (1982). Relationship of sex, exercise, and growth rate to life span in Wistar rat: a multivariate correlational approach. *Gerontology.* 28: 23-31.
- Ingram, D.K. (1983). Toward the behavioral assessment of biological aging in the laboratory mouse: concepts, terminology and objectives. *Exp. Aging Res.* 9(4): 225-238.
- Ingram, D.K. (1984a). Biological age: A strategy for assessment. En: Chebotarev, F., Tokar, A.V. y Voitenko, V.P. (Eds.), *Geriatrics and Gerontology Yearbook (U.S.S.R.)*. Institute for Gerontology, Kiev.
- Ingram, D.K. y Brennam, M.J. (1984b). Animal behavior models in biogerontology. *Neurobiol. Aging.* 5: 63-66.
- Ingram, D.K. and Reynolds, M.A. (1986). Assessing the predictive validity of psychomotor tests as measures of biological age in mice. *Exp. Aging Res.* 12(3): 155-162.
- Ingram, D.K. (1988). Motor Performance variability during aging in rodents. Assessment of reliability and validity of individual differences. En: Joseph, J.A. (Ed.), *Central determinants of age-related declines in motor function*. Ann. New York. Acad. Sci. 515: 70-96.
- Ingram, C.A., Hood, S.H. y Arbuthnott, G.W. (1989). Spine density on neostriatal neurons change with 6-hydroxydopamine lesions and with age. *Brain Res.* 503: 334-338.
- Irwin, I., Finnegan, K.T., Delaney, L.E., Di Monte, D. y Langston, W. (1992). The relationship between aging, monoamine oxidase, striatal dopamine and the effects of MPTP in C57BL/6 mice: a critical reassessment. *Brain Res.* 572: 224-231.

- J -

- Jaeger, C.B. (1985). Immunocytochemical study of PC12 cells grafted to the brain of immature rats. *Exp. Brain Res.* 59: 615- 624.
- Janicke, B., Schulze, G. y Coper, H. (1983). Motor performance achievements in rats of different ages. *Exp. Gerontol.* 18: 393-407.
- Janicke, B. y Wrobel, D. (1984). Changes in motor activity in age and the effects pharmacological treatment. *Exp. Gerontol.* 19: 321-328.
- Janicke, B., Coper, B. y Schuze, G. (1988). Adaptivity as a paradigm for age-dependent changes exemplified by motor behavior. En: Joseph, J. (Ed.), Central determinants of age-related declines in motor function. *Ann. New York Acad. Sci.* 515: 97-107.
- Jankovic, J., Grossman, R., Goodman, C., Pirozzolo, F., Schneider, L., Zhu, Z., Scardino, P., Garber, A.J., Jhingran, S.G. y Martin, S. (1989). Clinical, biochemical, and neuropathologic findings following transplantation of adrenal medulla to the caudate nucleus for treatment of Parkinson's disease. *Neurology.* 39: 1227-1234.
- Javitch, J.A., D'Amato, R.J., Strittmatter, S.M. y Snyder, S.H. (1985). Parkinsonism-inducing neurotoxin, N-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine by dopamine neurons explain selective toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82: 2173-2177.
- Javoy-Agid, F., Hirsch, E.C., Dumas, S., Duyckaertes, C., Mallet, J. y Agid, Y. (1990). Decreased tyrosine hydroxylase messenger RNA in the surviving dopamine neurons of the substantia nigra in Parkinson's disease: an in situ hybridization study. *Neurosci.* 38: 425-453.
- Jellestad, F.K., Markowska, A., Bakke, H.K. y Walther, B. (1986). Behavioral effects after ibotenic acid, 6-OHDA and electrolytic lesions in the central amygdala nucleus of the rat. *Physiol. Behav.* 37: 855-862.
- Jenkyn, L.R. y Reeves, A.G. (1981). Neurologic signs in uncomplicated aging (senescence). *Semin. Neurol.* 1: 21-30.
- Jenner, P. (1989). Clues to the mechanism underlying dopamine cell death in Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. Suppl.* 1989: 22-28.
- Jiao, S.S., Zhang, W.C., Cao, J.K., Zhang, Z.M., Wang, H., Ding, M.C., Sun, J.B., Sun, Y.C. y Shi, M.T. (1988). Study of adrenal medullary tissue transplantation to striatum in Parkinsonism. *Prog. Brain Res.* 78: 575-582.
- Jiao, S., Gurevich, V. y Wolff, J.A. (1993). Long term correction of rat model of Parkinson's disease by gene therapy. *Nature.* 362: 450-453.
- Johnson, T.N. y Rosvold, H.E. (1971). Topographic projections on the globus pallidus and the substantia nigra of selectively placed lesions in the precommissural caudate nucleus and putamen in the monkey. *Exp. Neurol.* 33: 584-596.
- Johnson, E.M. y Deckwerth, T.L. (1993). Molecular mechanisms of developmental neuronal death. *Annu. Rev. Neurosci.* 16: 31-46.
- Jones E.G., Coulter, J.D., Burton, H. y Porter, R. (1977). Cell of origin and terminal distribution of corticostriatal fibers arising in the sensory-motor cortex in monkeys. *J. Comp. Neurol.* 173: 53-80.
- Joseph, J.A., Berger, R.E., Engel, B.T. y Roth, G.S. (1978). Age-related changes in the neostriatum: A behavioral and biochemical analysis. *J. Gerontol.* 33: 643-649.
- Joseph, J.A., Filburn, C., Tzankoff, S.P., Thompson, J.M. y Engel, B.T. (1980). Age-related neostriatal alterations in the rat: failure of L-Dopa to alter behavior. *Neurobiol. Aging.* 1: 119-125.
- Joseph, J.A., Filburn, C.R. y Roth, G.S. (1981). Development of dopamine receptor denervation supersensitivity in the neostriatum of the senescent rat. *Life Sci.* 29: 575-584.
- Joseph, J.A., Bartus, R.T., Clody, D., Morgan, D., Finch, C., Beer, B. y Sesack, S. (1983). Psychomotor performance in the senescent rodent: reduction of deficits via striatal dopamine receptor up-regulation. *Neurobiol. Aging.* 4: 313-319.

- Joseph, J.A. y Roth, G.S. (1988). Upregulation of striatal dopamine receptors and improvement of motor performance in senescence. En: Joseph, J.A. Central determinants of age-regulated declines in motor function. *Ann. New York Acad. Sci.* 515: 355-362.
- Joyce, J.N., Loeschen, S.K. y Marshall, J.F. (1985). Dopamine D2 receptors in rat caudate-putamen: the lateral to medial gradient does not correspond to dopaminergic innervation. *Brain Res.* 338: 209-218.
- Joyce, J.N., Loeschen, S.K., Sapp, D.W. y Marshall, J.F. (1986). Age-related regional loss of caudate-putamen dopamine receptors revealed by quantitative autoradiography. *Brain Res.* 378: 158-163.
- Joyce, J.N. y Marshall, J.F. (1987). Quantitative autoradiography of dopamine D2 sites in rat caudate-putamen: localization to intrinsic neurons and not to neocortical afferents. *Neuroscience.* 20: 773-795.
- Joyce, J.N. y Hurtig, H. (1990). Differential regulation of striatal dopamine D1 and D2 receptor systems in Parkinson's disease and effects of adrenal medullary transplants. *Prog. Brain Res.* 82: 699-706.
- Joynt, R.L. y Gash, D.M. (1987). Neural transplants: are we ready. *Ann. Neurol.* 22: 455-456.
- Jungberg, T.I. y Ungerstedt, U. (1976). Sensory inattention produced by 6-hydroxydopamine-induced degeneration of ascending dopamine neurons. *Exp. Neurol.* 53: 585-600.
- K -
- Kamo, H., Kim, S.U., McGeer, P.L. y Shin, D.H. (1986). Functional recovery in rat model of Parkinson's disease following transplantation of cultured human sympathetic neurons. *Brain Res.* 397: 372-376.
- Kamo, H., Kim, S.U., McGeer, P.L., Tago, H. y Shin, D.H. (1987). Transplantation of cultured human adrenal chromaffin cells into 6-OHDA lesioned rat brain. *Synapse.* 1: 324-328.
- Kane, J.M., Weinhold, P., Kinon, B., Wegner, J. y Leader, M. (1982). Prevalence of abnormal involuntary movements (spontaneous dyskinesias in the normal elderly). *Psychopharmacology.* 77: 105-108.
- Kalra, J., Rajput, A.H., Mantha, S.V., Chaudhary, A.K. y Prasad, K. (1992). *Mol. Cell Biochem.* 112: 181-186.
- Kastner, A., Hirsch, E.C., Lejeune, O., Javoy-Agid, F., Rascol, O. y Agid, Y. (1992). Is the vulnerability of neurons in the substantia nigra of patients with parkinson's disease related to their neuromelanin content?. *J. Neurochem.* 59: 1080-1089.
- Kemp, J.M. y Powel, T.P.S. (1970). The corticostriate projection in the monkey. *Brain.* 93: 525-546.
- Kerkerian, L., Dusticier, N. y Nieoullon, A. (1987). Modulatory effect of dopamine on high-affinity glutamate uptake in the rat striatum. *J. Neurochem.* 48: 1301-1306.
- Khachaturian, Z. S. (1984). Towards theories of brain ageing. En: Kay y Burrows (Eds). *Handbook of studies on psychiatry and old age.* Elsevier. Amsterdam. 7-30.
- Kievit, J. y Kuypers, H.G.J.M. (1977). Organization of the thalamo-cortical connections to the frontal lobe in the rhesus monkey. *Exp. Brain Res.* 29: 299-322.
- Kim, R., Nakano, K., Jayarama, A. y Carpenter, M.B. (1976). Projections of the globus pallidus and adjacent structures: an autoradiographic study in the monkey. *J. Comp. Neurol.* 169: 263-290.
- Kim, J.S., Kornhuber, H.H., Schmid-Burgk, W. y Holzmüller, B. (1980). Effect of dopamine over glutamate release in striatal synaptosomes. *Neurosci. Lett.* 20: 379-382.
- Kish, S.J., Shannak, K., Rajput, A., Deck, J.H. y Hornykiewicz, O. (1992). Aging produces a specific pattern of striatal dopamine loss: implications for the etiology of idiopathic Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 58 (2): 642-648.

- Kitagawa, K., Matsumoto, M., Osa, T., Nunobe, M., Hoto, R., Handa, N., Fukunaga, R., Isaka, Y., Kimura, K., Maeda, H., Mikoshiba, K. y Kamado, T. (1990). Free radical generation during brief period of cerebral ischemia may trigger delays neuronal death. *Neuroscience*. 35: 551-558.
- Klockgether, T.M., Schwarz, M., Turski, L., Wolfarth, S. y Sontag, K.H. (1985). Rigidity and catalepsy after injections of muscimol into the ventromedial thalamic nucleus: an electrophysiological study in the rat. *Exp. Brain Res.* 58: 559- 569.
- Ko, G.N., Wilcox, B.J., Petracca, F.M., Miller, M.A., Marburg, M.M., Baskin, D.G. y Dorsa, D.M. (1989). Localization and measurement of neurotransmitter receptors in rat and human brain by quantitative autoradiography. *Comput. Med. Imaging. Graph.* 13: 37-45.
- Konradi, C., Reiderer, P. y Youdim, M.B.H. (1986). Hydrogen peroxide enhances the activity of monoamine oxidase type B but not type A: A pilot study. En: Caraceni, T., Reiderer, P., Agnoli, A., y Csanda, E. (Eds). *New vistas in parkinsons disease. J. Neural Transm. Suppl* 22: 61-73.
- Kontos, H.A. (1989). Oxygen radicals in CNS damage. *Chem. Biol. Interact.* 72: 229-255.
- Kordower, J.H., Cochran, E., Penn, R.D. y Goetz, C.G. (1990a). Putative Chromaffin cell survival and enhanced host-derived TH-fiber innervation following a functional adrenal medulla autograft for Parkinson's Disease. *Ann. Neurol.* 29: 405-412.
- Kordower, J.H., Findaca, M.S., Noller, M.F.D., Hansen, J.T. y Gash, D.M. (1990b). NGF-like trophic support from peripheral nerve for grafted rhesus adrenal chromaffin cells. *J. Neurosurg.* 73: 418-428.
- Kornhuber, J. y Kornhuber, M.E. (1983). Axo-axonic synapses in the rat striatum. *Eur. Neurol.* 22: 433-436.
- Kornhuber, J. y Lornhuber, M.E. (1986). Dopamine-glutamate interactions in the striatum. *Life Sci.* 39: 669-674.
- Kornhuber, J., Konradi, C., Mack-Burkhard, F. y Reiderer, P. (1989). Ontogenesis of monoamine oxidase A and B in the human brain frontal cortex. *Brain Res.* 483: 345-351.
- Kostrzewa, R. y Jacobwitz, D. (1974). Pharmacological actions of 6-hydroxydopamine. *Pharmacol. Rev.* 26: 199-287.
- Kramer, G., Breese, G., Prange, A., Moran, E., Lewis, J., Kemnitz, J., Bushnell, P., Howard, J. y McKinney, W. (1981). Use of 6-hydroxydopamine to deplete brain catecholamines in the rhesus monkey: Effects on urinary metabolites and behavior. *Psychopharmacol.* 7: 1-11.
- Krieger, D.T., Perlow, M.J., Gibson, M.J., Dames, T.F., Zimmerman, E.A., Ferin, M. y Charlton, H.M. (1982). Brain grafts reverse hypogonadism of gonadotropin-releasing hormone deficiency. *Nature.* 298: 468-471.
- Kromer, L., Bjorklund, A. y Stenevi, U. (1983). Intracerebral embryonic neural implants in the adult rat brain. I. Growth and mature organization of brain stem, cerebellar and hippocampal implants. *J. Comp. Neurol.* 218: 433-459.
- Kunsle, H. (1975). Bilateral projections from precentral motor cortex to the putamen and other parts of the basal ganglia. An autoradiographic study in *Macaca fascicularis*. *Brain Res.* 88: 195-210.
- Kunsle, H. (1978). An autoradiographic analysis of the efferent connections from premotor and adjacent prefrontal regions (areas 6 and 9) in *Macaca fascicularis*. *Brain Behav. Evol.* 15: 185-234.
- Kuo, J.S. y Carpenter, M.B. (1973). Organization of pallido-thalamic projections in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 151: 201-236.
- Kupsch, A., Sauer, H. y Ortel, W.H. (1991). Neural transplantation strategy against Parkinson's disease. *Nervenarzt.* 62: 80-91.
- L -
- Lai, H., Bowden, D.M. y Horita, A. (1987). Age-related decreases in dopamine receptors in the caudate nucleus and putamen of the rhesus monkey (*Macaca mulata*). *Neurobiol. Aging.* 8: 45-49.
- Landau, W.M. (1990). Artificial intelligence: the brain transplant cure for parkinsonism. *Neurology.* 40: 733-740.

- Langston, J.W., Ballard, P.A., Tetrud, J.W. y Irwin, I. (1983). Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science*. 219: 979-980.
- Langston, J.W., Forno, L.S., Rebert, C.S. y Irwin, I. (1984). Selective nigral toxicity after systemic administration of MPTP in the squirrel monkey. *Brain Res.* 292: 390-394.
- Langston, J.W., Irwin, I. y Ricaute, G.A. (1987). Neurotoxins, parkinsonism and Parkinson's disease. *Pharm. Ther.* 32: 19-49.
- Larish, D.D., Martin, P.E. y Mungiole, M. (1988). Characteristic Patterns of gait in the healthy old. En: Joseph, J.A. (Ed.) Central determinants of age-related declines in motor function. *Ann. New York Acad. Sci.* 515: 145-160.
- Lauder, J.M. y Bloom, F.E. (1974). Ontogeny of monoamine neurons in the locus coeruleus, raphe nuclei and substantia nigra of the rat. *J. Comp. Neurol.* 155: 469-482.
- Lavín, M.A. y Drucker-Colín, R. (1991). Ontogeny of the electrophysiological activity of dopaminergic cells with special reference to the influence of adrenal medullary grafts on aging. *Brain Res.* 545: 164-170.
- LeBel, C.P. y Bondy, S.C. (1991a). Oxygen radicals: common mediators of neurotoxicity. *Neurotoxicol. Teratol.* 13: 341-346.
- LeBel, C.P. y Bondy, S.C. (1991b). Persistent protein damage despite reduced oxygen radical formation in the aging rat brain. *Int. J. Dev. Neurosci.* 9: 139-146.
- LeBel, C.P. y Bondy, S.C. (1992). Oxidative damage and cerebral aging. *Prog. Neurobiol.* 38: 601-609.
- LeGros-Clark, W.E. (1940). Neuronal differentiation in implanted fetal cortical tissue. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 3: 264- 284.
- Lescudron, 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.
- Leslie, S.W., Chandler, L.J., Barr, E.M., y Farrar, R.P. (1985). Reduced calcium uptake by rat brain mitochondria and synaptosomes in response to aging. *Brain Res.* 329: 177-183.
- Levin, M.S., Adinolfi, A.M., Fisher, R.S., Hull, C.D., Buchwald, N.A. y McAllister, J.P. (1986). Quantitative morphology of medium-sized caudate spiny neurons in aged cats. *Neurobiol. Aging.* 7 (4): 277-286.
- Levine, M.S., Lloyd, R.L., Hull, C.D., Fisher, R.S. y Buchwald, N.A. (1987a). Neurophysiological alterations in caudate neurons in aged cats. *Brain Res.* 401: 213-230.
- Levine, M.S., Schneider, J.S., Lloyd, R.L., Hull, C.D. y Buchwald, N.A. (1987b). Aging reduces somatosensory responsiveness of caudate neurons in the awake cat. *Brain Res.* 405: 389-394.
- Levin, M.S., Adinolfi, A.M., Fisher, R.S., Hull, C.D., Guthrie, D., y Buchwald, N.A. (1988). Ultrastructural alterations in caudate nucleus of aged cats. *Brain Res.* 440 (2): 267-279.
- Levine, M.S. (1988). Neurophysiological and morphological alterations in caudate neurons in aged cats. En: Joseph, J.A. (Ed.) Central determinants of age-related declines in motor function. *Ann New York Acad. Sci.* 515: 314-328.
- Levy, D.I., Sucher, N.J. y Lipton, S.A. (1990). Redox modulation of NMDA receptor-mediated toxicity in mammalian central nervous system. *Neurosci. Lett.* 110: 291-296.
- Lieberman, A.N., Ransohoff, J. y Koslow, M. (1988). Adrenal medullary to caudate nucleus transplant as an effective treatment for advanced Parkinson's disease. *Neurology.* 38: 142.
- Liebman, J.M. y Butcher, L.L. (1973). Effects on self-stimulation behavior of drugs influencing dopaminergic neurotransmission mechanisms. *Arch. Pharmacol.* 277: 305-318.
- Lindvall, O. y Bjorklund, A. (1983). Dopamine and norepinephrine containing neurons system: their anatomy in the rat brain. En: Emson, P.C. (Ed.) Chemical neuroanatomy. Raven, New York. 56-78.

- Lindvall, O., Backlund, E.O., Farde, L., Sedvall, G., Freedman, R., Hoffer, B., Nobin, A., Sieger, A. y Olson, L. (1987). Transplantation in Parkinson's disease: two cases of adrenal medullary grafts to the putamen. *Ann. Neurol.* 22: 457-468.
- Lindvall, O. (1991a). Prospects of transplantation in human neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci.* 14(8): 376-382.
- Lindvall, O. (1991b). Transplants in Parkinson's disease. *Eur. Neurol.* 31(Suppl 1): 17-27.
- Lindvall, O., Widner, H., Rechenrona, S., Brundin, P., Odin, P., Gustavii, B., Frackowiak, R., Leenders, K.L., Sawle, G., Rothwell, J.C., Bjorklund, A. y Marsden, C.D. (1992). Transplantation of fetal dopamine neurons in Parkinson's disease: one year clinical and neurophysiological observations in two patients with putaminal implants. *Ann. Neurol.* 31: 155-165.
- Lippa, A.S., Nash, P.A. y Greenblatt, E.N. (1979). Pre-clinical neuropsychopharmacological testing procedures for anxiolytic drugs. En: Fielding, S. y Lai, H. (Eds.), *Anxiolytics*. New York. Futura. 24-30.
- Llinsky, L., Jouandet, M.L. y Golgman-Rakic, P.S. (1985). Autoradiographic study of the nigrothalamic projections in the monkey. *J. Comp. Neurol.* 236: 315-330.
- Lohr, J., Kuczenski, R., Bracha, H.S., Moir, M. y Jeste, D.V. (1990). Increased indices of free radical activity in the cerebrospinal fluid of patients with tardive dyskinesia. *Biol. Psychiatry.* 28: 535-539.
- Loopuijt, L.D., Sebens, J.B. y Korf, J. (1987). A mosaic-distribution of dopamine receptors in rat neostriatum and its relationship to striosomes. *Brain Res.* 405: 405-408.
- Lopez-Lozano, J.J., Abascal, J., Bravo, G. y CPH Neural Transplantation Group. (1990). A year follow-up of autoimplants of perfused adrenal medulla into parkinsonian patients. *Prog. Brain Res.* 82: 657-663.
- Lopez-Lozano, J.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: 234-243.
- Lopez-Lozano, J.J., Bravo, G., Abascal, J., Brera, B., Santos, H. y Gomez-Angulo, C. (1992). Co-transplantation of peripheral nerve and adrenal medulla in Parkinson's disease. *Lancet.* 339: 430.
- Lopez-Lozano, J.J. y Brera, A. (1993). Neural transplants in Parkinson's disease. *Transplant. Proc.* 25(supp 1): 1005-1011.
- Lopeztorres, M., Perezcampo, R., Rojas, C. y Dequiroga, C.B. (1992). Sensitivity to in vitro lipid peroxidation in liver and brain of aged rats. *Rev. Esp. Fis.* 48 (3): 191-196.
- Lopeztorres, M., Perezcampo, R., Fernandez, A., Barba, C. y Dequiroga, G.B. (1993). Brain Glutathione reductase induction increases rearily survival and decreases lipofuscin accumulation in aging frogs. *J. Neurosci. Res.* 34 (2): 233-242.
- M -
- Machado-Salas, J., Comejo, A., Ibarra, O., Aceves, J., Martinez-Fong, D., Huerta, G. y Kuri, J. (1990). Multidisciplinary analysis of the effectiveness of autologous neural transplant (adrenal Medulla) as treatment of Parkinson's disease. *Stereotactic. Funct. Neurosurg.* 54-55: 306-311.
- MacLeod, N.K., Ryman, A. y Arbuthnott, G.W. (1990). Electrophysiological properties of nigrothalamic neurons after 6-hydroxydopamine lesions in the rat. *Neuroscience.* 38(2): 447-456.
- Macias, A.E., Valencia, A. y Vilana, M. (1990). Long Lasting dementia following brain grafting for the treatment of Parkinson's disease. *Transplantaion.* 48: 348.
- Madrazo, I., Drucker-Colín, R., Diaz, V., Martinez-Mata, J., Torres, C. y Becerril, J.J. (1987). Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease. *N. Eng. J. Med.* 316: 831- 834.
- Madrazo, I. y Franco-Bourland, R. (1990). A brain transplant that works. *Lancet.* 335: 1283.
- Madrazo, I., Franco-Bourland, R., Ostrosky-Solis, F., Aguilera, M., Cuevas, C., Castrejon, H., Guizar, G. y Magallon, E. (1990a). Dementia following brain grafting. *Transplantation.* 49: 1026- 1027.

- Madrazo, I., Franco-Bourland, R., Ostrosky-Solis, F., Aguilera, M., Castrejon, H., Guizar-Zahagun, G. y Magallon, E. (1990b). Human fetal homotransplant to the nigrostriatal system as treatment for Parkinson's disease. *Arch. Invest. Med.* 21: 201- 207.
- Madrazo, I., Franco-Bourland, R., Aguilera, M., Ostrosky-Solis, F., Cuevas, C., Castrejon, H., Magallon, E., Madrazo, M., Apuzzo, M.L.J. y Penn, R.D. (1991a). Development of human neural transplantation. *Neurosurgery.* 29: 165-177.
- Madrazo, I., Franco-Bourland, R., Aguilera, M., Ostrosky-Solis, F., Madrazo, M., Cuevas, C., Castrejon, H., Guizar-Zahagun, G. y Magallon, E. (1991b). Autologous adrenal medullary, fetal mesencephalic, and fetal afrenal brain transplantation in Parkinson's disease: a long term postoperative follow up. *J. Neural. Transp. Plast.* 2: 157-164.
- Magnoni, M.S., Govoni, S., Battani, F. y Trabucchi, M. (1991). The aging brain: protein phosphorylation as a target of changes in neuronal function. *Life Sci.* 48: 373-385.
- Mahalik, T.J., Finger, T.E., Stromberg, I. y Olson, L. (1985). Substantia nigra transplants into the denervated striatum of the rat: ultrastructure of graft and host interconnections. *J. Comp. Neurol.* 240: 60-70.
- Makman, M.H., Ahn, H.S., Thal, L.J., Sharpless, N.S., Dvorkin, B., Horowitz, S.G. y Rosenfield, M. (1980). Evidence for selective loss of brain dopamine and histamine stimulated adenylate cyclase activities in rabbits with aging. *Brain Res.* 192: 177-183.
- Manaster, J.S., Feuerman, T., Reynolds, C.P. y Markham, C.M. (1992). Transplantation of human neuroblastoma cell, catecholaminergic and non catecholaminergic: Effects on rotational behavior in Parkinson's disease rat model. *J. Neural ransp. Palast.* 3: 139-150.
- Mann, D.M.A., Yates, P.O. (1974). Lipoprotein pigments: Their relation to ageing in the human nervous system. II the melanin content of pigmented nerve cells. *Brain.* 97: 489-498.
- Mann, D.M.A., Yates, P.O. y Marcyniuk, B. (1984a). Monoaminergic neurotransmitter systems in presenile Alzheimer's disease and senile dementia of Alzheimer type. *Clin. Neuropathol.* 3: 199-205.
- Mann, D.M.A., Yates, P.O. y Marcyniuk, B. (1984b). Alzheimer's presenile dementia, senile dementia of Alzheimer type and Down's syndrome in middle age from an age related continuum of pathological changes. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 19: 185-207.
- Marien, M., Brien, J. Jhamandas, K. (1983). Regional release of dopamine from rat brain in vitro: effects of opioid on release induced by potassium, nicotine and L-glutamic acid. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 61: 43-60.
- Marinesco, P. y Minea, J. (1907). Changements morphologiques des cellules nerveuses survivant a la transplantation des ganglions nerveux. *Pathol. Anat. Allg.* 43: 205-211.
- Marquis, J.K., Lippa, A.S. y Pelham, R. (1981). Dopamine receptors alterations with aging in mouse and rat corpus striatum. *Biochem. Pharmacol.* 30: 1876-1878.
- Marshall, J.F. y Berrios, N. (1979). Movement disorders of aged rats: reversal by dopamine receptor stimulation. *Science.* 206: 477-479.
- Marshall, J.F. (1982). Sensorimotor disturbances in aging rodents. *J. Gerontol.* 37: 548-554.
- Marshall, J.F., Drew, M.C. y Neve, K.A. (1983). Recovery of function after mesotelencephalic dopaminergic injury in senescence. *Brain Res.* 259: 249-260.
- Martilla, R.J., Lorentz, H. y Rinne, U.K. (1988). Oxygen toxicity protectin enzymes in Parkinsons disease: increase of superoxide dismutase like activity in the substantia nigra and basal nucleus. *J. Neorol. Scie.* 86: 321-331.
- Martínez-Fong, D., Rosales, G.M., Gongora-Alfaro, J.L., Hernández, S. y Aceves, J. (1992). NMDA receptor mediates dopamine release in striatum of unanesthetized rats as measured by brain microdialysis. *Brain Res.* 595: 309-315.

- Matelli, M., Luppino, G., Fogassi, L. y Rizzolatti, G. (1989). Identification of thalamo-cortical projections to the arcuate premotor area. *J. Comp. Neurol.* 280: 468-488.
- Mattson, M.P., Lovell, M.A., Ehmann, W.D. y Markesbery, W.R. (1993). Comparison of the effects of elevated intracellular aluminum and calcium levels in neuronal survival and Tau immunoreactivity. *Brain Res.* 602: 21-31.
- Matsumoto, A., Kobayashi, S., Muralsami, S. y Arai, Y. (1984). Recovery of declined ovarian function in aged female rats by transplantation of newborn hypothalamic tissue. *Proc. Jpn. Acad.* 60: 73-76.
- Matsumoto, A., Murakami, S., Arai, Y. y Nagatsu, I. (1987). Ultrastructural and immunohistochemical analysis of fetal mediobasal hypothalamic tissue transplanted into the aged rat brain. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) Cell and tissue transplantation into the adult brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 495: 404-414.
- Maura, G., Giardi, A. y Raiteri, M. (1988). Release-regulating D2 dopamine receptors are located on striatal glutamatergic nerve terminals. *J. Pharm Expll. Ther.* 247: 680-684.
- May, R.M. (1935). La griffe dans l'oeil de rat blanc du tissu cerebral de rat nouveau-ne. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* 26: 433-465.
- May, R.M. (1945). Regeneration cérébrale provoquée par la greffe intraoculaire simultanée de tissu cérébrale de nouveau-né et de nerf sciatique chez la souris. *Bulletin de Biologie Franco Belge.* 79: 151-160.
- May, T. y Sagawa, M. (1993). Altered dopamine receptor mediated signal transmission in the striatum of aged rats. *Brain Res.* 604:106-111.
- McCafferty, W.B. y Edington, D.W. (1974). Skeletal muscle and organ weights of aged and trained male rats. *Gerontologia.* 20: 44-50.
- McDonald, R.J., Hagenauer, J. y Saltman, P. (1986). Age-related differences in the bone mineralization pattern of rats following exercise. *J. Gerontol.* 41: 445-452.
- McEntee, W.J. y Crook, T.H. (1990). Age-associated memory impairment: a role for catecholamines. *Neurology.* 40: 526-530.
- McGeer, E.G., McGeer, P.L. y Wada, J.A. (1971a). Distribution of tyrosine hydroxylase in human and animal brain. *J. Neurochem.* 26: 67-76.
- McGeer, E.G., Fibiger, H.G., McGeer, P.L. y Wickson, V. (1971b). Aging and brain enzymes. *Exp. Gerontol.* 6: 391-396.
- McGeer, P.L. y McGeer, E.G. (1976). Enzymes associated with the metabolism of catecholamines, acetylcholine and GABA in human controles and patients with Parkinson's disease ans Huntington's chorea. *J. Neurochem.* 26: 65-76.
- McGeer, P.L., Mcgeer, E.G., y Suzuki, J.S. (1977). Aging and extrapyramidal function. *Arch. Neurol.* 34: 33-35.
- McGeer, P.L. y Mcgeer, E.G. (1978). Aging and neurotransmitter systems. En Finch, C.E., Potter, D.E. y Kenny, A.T. (Eds.) Parkinson's disease II. Aging and neuroendocrine relationships. Plenum, New York. 41-57.
- McGeer, P.L., Itagaki, S., Akiyama, H. y McGeer, E.G. (1989). Comparison of neuronal loss in Parkinson's disease and aging. En: Calne, D.B., Colmi, G. y Horowski, R. (Eds.) Parkinsonism and Aging. Plenum, New York. 25-34.
- McNeill, T.H., Koek, L.L. y Haycock, J.M. (1984). Age-correlated changes in dopaminergic nigrostriatal perikarya of the C57BL/6NNia mouse. *Mech. Ageing Dev.* 24 (3): 293-307.
- McNeill, T.H., Koek, L.L., Brown, S.A. y Rafolos, J.A. (1988a). Age-related changes in the nigrostriatal system. En: Joseph, J.A. Central determinants of age-related declines in motor function. *Ann New York Acad. Sci.* 515: 239-248.
- McNeill, T.H., Brown, S.A., Rafolos, J.A. y Shoulson, J. (1988b). Atrophy of medium spiny dendrites in advanced Parkinson's disease. *Brain Res.* 455: 148-152.
- McNeill, T.H. y Koek, L.L. (1990). Differential effects of advancing age on neurotransmitter, cell loss in the substantia nigra and striatum of C57BL/6N mice. *Brain Res.* 521: 107-117.

- McRae-Degueurce, A., Klawans, H.L., Penn, R.D., Dahlstrom, A., Tanner, C.M., Goetz, C.G. y Carvey, P.M. (1988). An antibody in the CSF of Parkinson's disease patients disappears following adrenal medulla transplantation. *Neurosci. Lett.* 94: 192-197.
- Melamed, E. (1988). Brain grafting may reverse loss of responsiveness to levodopa therapy in Parkinson's disease. *Clin. Neuropharmacol.* 11: 77-82.
- Meldrum, B. (1985). Possible therapeutic applications of antagonists of excitatory amino acid neurotransmitters. *Clin. Sci.* 68: 113-122.
- Meloni, R., Childs, J., Gerogan, F., Yurkofsky, S. y Gale, K. (1988). Effect of haloperidol on transplants of fetal substantia nigra: evidence for feedback regulation of dopamine removal in the graft and its projections. En: Gash, D.M. y Sladek, J.R. (Eds.) *Progress in Brain Research*. Elsevier, New York. 78: 457-461.
- Memo, M., Lurchi, L., Spano, P.F. y Trabucchini, M. (1980). Aging process affects a single class of dopamine receptors. *Brain Res.* 202: 488-492.
- Mendoza-Ramirez, J.L., Aguilar-Roblero, R., Zainos-Rosales, A. y Drucker-Colin, R. (1991). Fetal substantia nigra and adrenal medullary grafts placed contralesional to the nigrostriatal lesion side induce a reduction of turning behavior but not in dopamine receptor density. *Rest. Neurol. Neuroscien.* 3(4): 177-185.
- Menei, P., Guy, G. y Pouplard-Barthelaix, A. (1991). Intracerebral grafting in Parkinson's disease. *Presse. Med.* 20: 513-517.
- Mescos, E.R., Joseph, J.A., Blake, M.J. y Roth, G.S. (1991). Loss of D2 receptors during aging is partially due to decreased levels of mRNA. *Brain Res.* 547: 355-357.
- Meyers, R. (1951). Surgical experiments in the therapy of certain "extrapyramidal" diseases: a current evaluation. *Acta Psychiatrica. Neurol. Scand. Suppl.* 67: 7-41.
- Micali, F., Parziani, S., Vespasiani, G., Virgili, G., Rosi, P., Bonacina, R. y Porena, M. (1989). Adrenal medulla autotransplantation in Parkinson's disease. *Acta Neuro. Ital.* 3-4(suppl 1): 617-621.
- Miquel, J. y Blasco, M.A. (1978). A simple technique for evaluation of vitality in aging mice, by testing their muscular coordination and vigor. *Exp. Gerontol.* 13: 389-396.
- Miles, J. y Morely, J. (1990). A brain transplant that works. *Lancet.* 335: 1042.
- Minotti, G. y Aust, S.D. (1989). The role of iron in oxygen radical mediated lipid peroxidation. *Chem. Biol. Interact.* 71: 1-19.
- Misra, C.H., Shelat, H.S. y Smith, R.C. (1980). Effect of age on adrenergic and dopaminergic receptor binding in rat brain. *Life Sci.* 27: 521-526.
- Misra, C.H., Shelat, H.S. y Smith, R.C. (1981). Influence of age on the effects of chronic fluphenazine on receptor binding in rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* 76: 317-324.
- Mitchell, P.R. y Doggett, N.S. (1980). Modulation of striatal glutamic acid release by dopaminergic drugs. *Life Sci.* 26: 2073-2081.
- Mitchell, S.J., Richardson, R.T., Baker, F.H. y DeLong, M.R. (1987). The primate globus pallidus: Neuronal activity related direction of movement. *Exp. Brain Res.* 68: 481-505.
- Molina, H., Galarraga, J., Quiñones, R., Figueredo, R., Estrada, R., Alvarez, L., Hernández, R., Rachid, M., Oduardo, H., Coutin, P., Diaz, G., Duque, A., Hernandez, H y Basco, E. (1988). El neurotrasplante en la enfermedad de Parkinson. Experiencia cubana: reporte preliminar. Centro Trasplante y Regeneración del Sistema Nervioso. Habana, Cuba. 1-18.
- Moore, R.Y., Bhatnagar, R.K. y Heller, A. (1971). Anatomical and chemical studies of nigro-neostriatal projection in the cat. *Brain Res.* 30:119-135.
- Mora, F., Sanguinetti, A.M., Rolls, E.T. y Shaw, S.G. (1975). Differential effects on self-stimulation and motor behavior produced by microintra-cranial injections of a dopamine-receptor blocking agent. *Neurosci. Lett.* 1: 179-184.
- Morelli, M., Mennini, T., Cagnotto, A., Toffano, G. y DiChiara, G. (1990). Quantitative autoradiographical analysis of the age-related modulation of central dopamine D1 and D2 receptors. *Neuroscience.* 36 (2): 403-410.

- Morgan, G.M., May, P.C. y Finch, C.E. (1986). Dopamine and serotonin systems in human and rodent brain: effects of age and neurodegenerative disease. *J. Amer. Geriatr. Soc.* 35: 334-345.
- Morgan, D.G., Marcusson, J.O., Nyberg, P., Wester, P., Winblad, B, Gordon, M.N. y Finch, C.E. (1987). Divergent changes in D1 and D2 dopamine binding sites in human brain during aging. *Neurobiol. Aging.* 8: 195-201.
- Morgan, D.G. y Finch, C.E. (1988). Dopaminergic Changes in the basal ganglia: A generalized phenomenon of aging in mammals. En: Joseph, J.A. (Ed.) Central determinants of age-related declines in motor function. *Ann. New York Acad. Sci.* 515: 145-160.
- Morisha, J.M., Nakamura, R.K., Freed, W.J., Mishkin, M. y Wayatt, R.J. (1984). Adrenal medulla grafts survive and exhibit catecholamine-specific fluorescence in the primate brain. *Exp. Neurol.* 84: 643-653.
- Mortimer, J.A. (1988). Human motor behavior and aging. En: Joseph, J.A. (Ed.) Central determinants of age-related declines in motor function. *Ann. New York Acad. Sci.* 515: 54-66.
- Moyer, J.R., Thompson, L.T., Black, J.P. y Disterhoft, J.F. (1992). Nimodipine increases excitability of rabbit CA1 pyramidal neurons in an age and concentration dependent manner. *J. Neurophysiol.* 68: 2100-2109.
- Murphy, J.B. y Sturm, E. (1923). Conditions determining the transplantability of tissues in the brain. *J. Exp. Med.* 38: 183-190.
- Murphy, T.H., Myramato, M., Sastre, A., Schaar, R.L. y Coyle, J.T. (1989). Glutamate toxicity in a neuronal cell line involves inhibition of cysteine transport leading to oxidative stress. *Neuron.* 2: 1547-1558.
- Myllyla, V.V., Sotaniemi, K.A., Vuorinen, J.A. y Heinonen, E.H. (1992). Selergine as initial treatment in de novo parkinsonian patients. *Neurology.* 42: 339-343.
- N -
- Nadaud, D., Herman, J.P., Simon, H. y LeMoal, M. (1984). Functional recovery following transplantation of ventral mesencephalic cells in animals subjected to 6-OHDA lesions of the mesolimbic DA neurons. *Brain Res.* 304: 137-141.
- Nagatsu, T. (1992). Genes for human catecholamine synthesizing enzymes: the structure, expression and pathology. *Yak. Sel. Kod.* 12: 223-228.
- Nauta, W.J.H. (1979). Projections of the pallidal complex: An autoradiographic study in the cat. *Neuroscience* 4: 1875-1881.
- Nakanishi, H., Kita, H. y Kitai, S.T. (1987). Intracellular study of rat substantia nigra pars reticulata neurons in an in vitro slice preparation: electrical membrane properties and response characteristics to subthalamic stimulation. *Brain Res.* 437: 45-55.
- Neve, R.L., Kammesheidt, A. y Hohmann, C.F. (1992). Brain transplants of cells expressing the carboxyl terminal fragment of the Alzheimer amyloid protein precursor cause specific neuropathology in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89: 3448-3452.
- Nieoullon, A., Cheramy, A. y Glowinsky, J. (1978). Release of dopamine evoked by electrical stimulation of the motor and visual areas of the cerebral cortex in both caudate nuclei and in the substantia nigra of the cat. *Brain Res.* 145: 69-83.
- Nieoullon, A., Kerkerian, L. y Dusticier, N. (1982). Inhibitory effects of dopamine on high affinity glutamate uptake from rat striatum. *Life Sci.* 30: 1165-1172.
- Nieoullon, A., Kerkerian, L. y Dusticier, N. (1983). Presynaptic dopaminergic control of high affinity glutamate uptake in the striatum. *Neurosci. Lett.* 43: 191-196.
- Nieto-Sampedro, M., Kesslak, J.P., Gibbs, R. y Cotman, C.W. (1987). Effects of conditioning lesions on transplant survival. En: Azmitia, E.C. y Bjorklind, A. (Eds.) Cell and tissue transplantation into the adult brain. *Ann. New York Acad. Sci.* 495: 108-119.

- Niesen, C.E., Baskys, A. y Carlen, P.L. (1988). Reversal ethanol effects on potassium conductances in aged hippocampal dentate granule neurons. *Brain Res.* 445: 137-141.
- Nisenbaum, E.S., Orr., W.B. y Berger, T.W. (1988). Evidence for two functionally distinct subpopulations of neurons within the rat striatum. *J. Neurosci.* 8(11): 4138-4150.
- Nishino, H., Ono, T., Takahashi, J., Kimura, M., Shiosaka, S., Yamasaki, H., Hatanaka, H. y Tohyama, M. (1986a). The formation of new neuronal circuit between transplanted nigral dopamine neurons and non-immunoreactive axon terminals in the host rat caudate nucleus. *Neurosci. Lett.* 64: 13-16.
- Nishino, H., Ono, T., Takahashi, J., Kimura, M., Shiosaka, S. y Tohyama, M. (1986b). Transplants in the peri- and intraventricular region grow better than those in the central parenchyma of the caudate. *Neurosci. Lett.* 64: 84-190.
- Nishino, H., Ono, T., Shibata, R., Kawamata, S., Watanabe, H., Shiosaka, S., Tohyama, M. y Karadi, Z. (1988). Adrenal medullary cells transmute into dopaminergic neurons in the dopamine-depleted rat caudate and ameliorate motor disturbances. *Brain Res.* 445: 325-337.
- Nishino, H. (1993). Intracerebral grafting of catecholamine producing cells and reconstruction of disturbed brain function. *Neurosci. Res.* 16: 157-172.
- Novi, I. (1912) Calcium et le magnesium du cerveau dans des differents ages. *Arch. Ital Biol.* 58: 333-336. Citado en: Gibson G.E. y Peerson C. (1987) Calcium and the aging nervous system. *Neurobiol. Aging.* 8: 329-343.
- O -
- O'Boyle, K.M. y Waddington, J.L. (1984). Loss of striatal dopamine receptors with ageing is selective for D-2 but not D-1 sites: Association with increased nonspecific binding of the D-1 ligand [³H] piflutixon. *Eur. J. Pharmacol.* 105: 171-174.
- Ochs, S., Worth, R.M. y Chan, S.Y. (1977). Calcium requirement for axoplasmic flow in mammalian nerve. *Natura.* 270: 748-750.
- Olanow, C.W., Cahill, D. y Cox, C.H. (1988). Autologous transplantation of adrenal medulla to caudate nucleus in Parkinson's disease. *Neurology.* 38: 142.
- Olanow, C.M., Koller, W., Goetz, C.G., Stebbins, G.T., Cahill, D.W., Gauger, L.L., Moratz, R., Penn, R.D., Tanner, C.M., Klawans, H.L., Shannon, K.M., Comella, C.L. y Witt, T. (1990). Autologous transplantation of adrenal medulla in Parkinson's disease. *Arch. Neurol.* 47: 1286-1289.
- Olanow, C.M. (1991). Oxidation reactions in Parkinson's disease. *Neurology.* 40 Suppl. 3: 32-39.
- Olanow, C.M. (1992a). Early therapy for Parkinson's disease. *Eur. Neurol.* 32 (Supl 1): 30-35.
- Olanow, C.W. (1992b). An introduction to the free radical hypothesis in Parkinson's disease. *Ann Neurol. Suppl.* 32: 2-9.
- Olanow, C.W. (1993). Surgical treatment of parkinson's disease. *Neurology.* 43(2) supl 1: 40-41.
- Olds, J. y Milner, P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 47: 419-427.
- Oleson, S.P. (1986). Rapid increase in blood-brain barrier permeability during severe hypoxia and metabolic inhibition. *Brain Res.* 368: 24-29.
- Oliver, C.N., Starke-Reed, P.E., Stadtam, E.R., Lin, G.J., Correy, J.M. y Floyd, R.A. (1990). Oxidative damage to brain proteins, loss of glutamine synthetase activity and production of free radicals during ischemia reperfusion-induced injury to gerbil brain. *Proc. atl. Acad. Sci. U.S.A.* 87: 5144-5147.
- Olshansky, S.J., Carnes, B.A. y Cassel, C.K. (1993). Fruit fly aging and mortality. *Science.* 260: 1565-1566.
- Olson, L. y Malmfors, T. (1970). Growth characteristics of adrenergic nerves in the adult rat: fluorescence, histochemical and H-noradrenaline uptake studies using tissue transplantation to the anterior chamber of the eye. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 348: 1-122.

- Olson, L., Sieger, A. y Stromberg, I. (1982). Intraocular transplantation in rodents: a detailed account of the procedure and examples of its use in neurobiology with specific reference to brain tissue grafting. En: Federoff, S. (Ed.) *Advances in cellular neurobiology*. Academic Press, New York. 4: 407-442.
- Olson, L., Stromberg, I., Herrera-Marschitz, M., Ungerstedt, U. y Ebendal, T. (1985). Adrenal medullary tissue grafted to the dopamine-denervated striatum: Histochemical and functional effects of additions of nerve growth factor. En: Bjorklund, A. y Stenevi, U. (Eds.) *Neural grafting in the mammalian CNS*. Elsevier Scientific Publishers, Amsterdam. 505-525.
- Orelund, L., Arai, Y. y Stenstrom, A. (1984). Age, neuro-psychiatric disease and brain mono-amine oxidase. En: Tipton, K.F., Dostert, P., Benedetti, S.M. (Eds.) *Monoamine oxidase and disease*. Academic Press. London. 139-156.
- O'Shea, B. (1990). Brain transplants: myth or monster. *Br. J. Psychiatry*. 157: 302.
- Osterburg, H.H., Donahue, H.G., Severson, J.A. y Finch, C.E. (1981). Catecholamine levels and turnover during aging in brain regions of male C57BL/6J mice. *Brain Res*. 224: 337-352.
- Ottenweller, J.E., Tapp, W.N. y Natelson, B.H. (1986). Use of motor performance tests to differentiate aging effects from disease effects. *Exp. Gerontol*. 21: 127-136.
- P -
- Pacifici, R.E. y Davies, K.J.A. (1991). Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: The free radical theory of aging revisited. *Gerontology*. 37: 166-180.
- Pakkenberg, B., Moller, A., Gundersen, H.J., Mouritzen, D.A. y Pakkenberg, H. (1991). The absolute number of nerve cells in substantia nigra in normal subjects and in patients with Parkinson's disease estimated with an unbiased stereological method. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr*. 54 (1): 30-33.
- Pan, H.S., Penney, J.B. y Young, A.B. (1985). Changes in H-muscimol binding in substantia nigra, entopeduncular nucleus and thalamus after striatal lesions. *J. Neurochem*. 45: 1396-1404.
- Papavasiliou, P.S., Miller, S.T., Thal, L.S., Nerder, L.J., Houlihan, G., Rao, S.N. y Stevens, J.M. (1981). Age-related motor and catecholamine alterations in mice on levodopa supplemented diet. *Life Sci*. 28: 2945-2952.
- Parent, A., Buchard, C. y Smith, Y. (1984). The striatopallidal and striatonigral projections: two distinct fiber systems in primates. *Brain Res*. 303: 385-390.
- Parkinson, J. (1817). *An essay on the shaking palsy*. Neely and Jones, London, Sherwood.
- Pasinetti, G.M., Osterburg, H.H., Kelly, A.B., Kohama, S., Morgan, D.G., Reinhard, J.F., Stellwagen, R.H. y Finch, C.E. (1992). Slow changes of tyrosine hydroxylase gene expression in dopaminergic brain neurons after neurotoxin lesioning: a model for neuronal aging. *Mol. Brain Res*. 13: 63-73.
- Patel-Vaidya, U., Wells, M.R. y Freed, W.J. (1985). Survival of dissociated adrenal chromaffin cells of rat and monkey transplanted into the rat brain. *Cell Tissue Res*. 240: 281-285.
- Pellegrini-Giampietro, D.E., Cherici, G., Alesiani, M., Carla, V. y Moroni, F. (1990). Excitatory amino acid release and free radical formation may cooperate in the genesis of ischemia-induced neuronal damage. *Neuroscience*. 10: 1035-1041.
- Penney, J.B., y Young, A.B. (1981). GABA as the pallidothalamic neurotransmitter: implications for basal ganglia functions. *Brain Res*. 207: 195-199.
- 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: 643-647.
- Perlow, M.J., Kumakura, K. y Guidotti, A. (1980). Prolonged survival of bovine adrenal chromaffin cells in the rat cerebral ventricles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 77: 5278-5281.

- Perry, T.L., Godin, D.V. y Hansen, S. (1982). Parkinsons disease: A disorder due to nigral glutathione deficiency?. *Neurosci. Lett.* 33: 305-310.
- Perry, T.L. (1990). A brain transplant that works. *Lancet.* 335: 1049.
- Peterson, C. y Gigson, G.E. (1983a). Aging and 3,4-diaminopyridine alter synaptosomal calcium uptake. *J. Biol. Chem.* 258: 11482-11485.
- Peterson, C. y Gibson, G.E. (1983b). Amelioration of age related neurochemical and behavioral deficits by 3,4-diaminopyridine. *Neurobiol. Aging.* 4: 25-30.
- Peterson, C., Gibson, G.E. y Blass, J.P. (1985a). Altered calcium uptake in cultured skin fibroblasts from patients with Alzheimer's disease. *New Eng. J. Med.* 312: 1063-1065.
- Peterson, C., Nicholls, D.G. y Gibson, C.E. (1985b). Subsynaptosomal calcium distribution during aging and 3,4-diaminopyridine treatment. *Neurobiol. Aging.* 6: 297-304.
- Peterson, C., Ratan, R.R., Sbelanski, M.L. y Goldman, J.E. (1986). Cytosolic free calcium and cell spreading decreases in fibroblasts from aged and Alzheimer's donors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83: 7999-8001.
- Peterson, D.I., Price, M.L. y Small, C.S. (1989). Autopsy findings in a patient who had an adrenal to brain transplant for Parkinson's disease. *Neurology.* 39: 235-238.
- Pezzoli, G., Fahn, S., Dwork, A., Tmoung, D.D., Yabens, J.G., Jackson-Lewis, V., Hervert, J. y Codet, J.L. (1988). Non-chromaffin tissue plus nerve growth factor reduce experimental parkinsonism in aged rats. *Brain Res.* 459: 398-403.
- Pezzoli, G., Motti, E., Zacchineli, A., Ferrante, C., Silani, V., Falini, A., Pizzuti, A., Mulazzi, D., Baratta, P., Vegeto, A., Villani, R. y Scartalo, G. (1990). Adrenal medulla autograft in 3 parkinsonian patients: results using two different approaches. *Prog. Brain Res.* 82: 677-682.
- Phillips, A.G., Brooke, S.M. y Fibiger, H.C. (1975). Effects of amphetamine isomers and neuroleptics on self-stimulation from the nucleus accumbens and dorsal noradrenergic bundle. *Brain Res.* 85: 13-22.
- Phillips, A.G. Carter, D.A. y Fibiger, H.C. (1976). Dopaminergic substrates of intracranial self-stimulation in the caudate-putamen. *Brain Res.* 104: 221-232.
- Pilas, B., Sana, T., Kalyanaraman, B. y Swartz, H.M. (1988). The effect of melanin on iron associated decomposition of hydrogen-peroxide. *Free rad. Biol. Med.* 4: 285-293.
- Poltorak, M., Herranz, A.S., Williams, J., Laurentti, L. y Freed, W.J. (1993). Effects of frontal cortical lesions on mouse striatum. Reorganization of cell recognition molecule, Glial Fiber and Synaptic protein expression in the dorsomedial striatum. *J. Neurosci.* 2217-2229.
- Ponzio, F., Calderini, G., Lomuscio, G., Vantini, G., Toffano, G. y Algeri, S. (1982). Changes in monoamine and their metabolite levels in some brain regions of aged rats. *Neurobiol. Aging.* 3: 23-39.
- Ponzio, F., Achilli, G., Calderini, G., Ferretti, P., Perego, C., Toffano, G. y Algeri, S. (1984). Depletion and recovery of neuronal monoamine storage in rats of different ages treated with reserpine. *Neurobiol. Aging.* 5: 101-104.
- Porta, E.A. (1991). Advances in age pigment research. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 12: 303-320.
- Potier, B., Lamour, Y. y Dutar, P. (1993). Age-related alterations in the properties of hippocampal pyramidal neurons among rat strains. *Neurobiol. Aging.* 14: 15-25.
- Potvin, A.R., Syndulko, K., Trutellotte, W.W., Lemmon, J.A. y Potvin, J.H. (1980). Human neurologic function and the aging process. *J. Am. Geriatr. Soc.* 28: 1-8.
- Prado-Alcalá, R.A. (1986). Participación de la dopamina en la motivación. *Bol. Est. Med. Biol.* 34: 57-63.

- Price, M.T., Olney, J.W. y Haft, R. (1981). Age-related changes in glutamate concentrations and synaptosomal glutamate uptake in adult rat striatum. *Life Sci.* 28: 1365-1370.
- Pryor, W.A. (1987). The free-radical theory of aging revisited: a critique and a suggested disease-specific theory. En: Warner, H.R. (Eds) *Modern biological theories of aging*. Raven Press, New York. 89-112.
- Przedborski, S. y Levivier, M. (1992). New Approaches for Parkinson's disease. *Rev. Med. Brux.* 13: 360-366.
- Puri, S.K. y Volicer, L. (1977). Effect of aging on cyclic AMP levels and adenylate cyclase and phosphodiesterase activities in the rat corpus striatum. *Mech. Ageing Dev.* 6: 53-58.
- **Q** -
- Quinn, N.P. (1990). Levodopa-based therapy. En: Koller, W.C. y Pavison, G. (Eds.), *Therapy of Parkinson's disease*. Marcel Dekker, Inc. New York. 169-203.
- Quinn, N.P. y Steiger, M.J. (1991). Parkinson's disease: clinical and therapeutic aspects. *Curr. Opin. Neurol. Neurosurg.* 4: 331- 336.
- **R** -
- Rafael, H., Moromizato, P., Espinoza, M., Ayulo, V. y Gonzalez-Portillo, M. (1991). Transplantation of adrenal medulla and omentum to the putamen by a transinsular pathway for Parkinson's disease. *Neurosurgery.* 28: 481.
- Ragusa, N., Turpeenoja, L., Magri, G., Lahdesmaki, P. y Giuffrida Stella, A.M. (1989). Age dependent modifications of mitochondrial proteins in cerebral cortex and striatum of rat brain. *Neurochem. Res.* 14: 415-418.
- Randall, P.K., Severson, J.A. y Finch, C.E. (1981). Aging and the regulation of striatal dopaminergic mechanisms in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 219: 690-700.
- Ranson, S.W. (1914). Transplantation of the spinal ganglion, with observations on the significance of the complex types of spinal ganglion cells. *J. Comp. Neurol.* 24: 547-558.
- Ravindranath, V., Shivakumar, R. y Anandatheer-Thavarada, H.K. (1989). Low glutathione levels in aged rats. *Neurosci. Lett.* 101: 187-190.
- Redmond, D.E., Heindrichs, R.L., Maas, J.W. y Kling, A. (1973). Behavior of free-ranging macaques after intraventricular administration of 6-hydroxy dopamine. *Science.* 181: 1257-1259.
- Reiderer, P. y Wuketich, S.T. (1976). Time course of nigrostriatal degeneration in Parkinson's disease. A detailed study on influential factors in human brain amine analysis. *J. Neural Transm.* 38: 277-301.
- Reiderer, P., Rausch, W.D., Schmidt, B., Kruzik, P., Konradi, C. y Sofic, E. (1988). Biochemical fundamentals of Parkinson's disease. *Mount Sinai J. Med.* 55: 21-28.
- Reiderer, P., Konradi, C., Hebenstreit, G. y Youdim, M.B.H. (1989a). Neurochemical perspectives to the function of monoamine oxidase. *Acta Neurol. Scand.* 126: 41-45.
- Reiderer, P., Sofic, E., Rausch, W.D., Schmidt, B., Reynolds, G.P., Kellinger, K. y Youdim, M.B.H. (1989b). Transition metals, ferritin glutathione and ascorbic acid in Parkinson's brains. *J. Neurochem.* 50: 515-520.
- Reis, D.J., Ross, R.A. y Joh, T.H. (1977). Changes in the activity and amounts of enzymes synthesizing catecholamines and acetylcholine in brain, adrenal medulla, and sympathetic ganglia of aged rat and mouse. *Brain Res.* 136: 465-474.
- Reis, D.J. (1983). Genetic differences in number of chemically specified neurons in brain: A possible biological substrate for variations in onset of symptoms of cerebral aging in man. En: Samuel, D., Algeri, S., Gershon, S., Grimm, V.E. y Toffano, G. (Eds.), *Aging of the brain*. Raven Press, New York. 257-270.
- Ridley, R.M. y Baker, H.F. (1991). Can fetal neural transplants restore function in monkeys with lesion induced behavioural deficits. *Trend Neurosci.* 366-370.
- Rinne, J.O. (1985). Brain muscarinic and dopaminergic receptors in the aging human brain. *Brain Res.* 404: 162-168.

- Rinne, J.O., Lonnberg, P. y Marjamaki, P. (1990). Age-dependent decline in human brain dopamine D1 and D2 receptors. *Brain Res.* 508: 349-352.
- Rinne, J.O., Hietala, J., Ruotsalainen, U., Sako, E., Laihin, A., Nagren, K., Lehtikoinen, P., Oikonen, V. y Syvalahti, E. (1993). Decrease in human striatal dopamine-D2 receptors density with age: a pet study with (C-11) Raclopride. *J. Cereb. Flow. Metab.* 13: 310-314.
- Rogers, J., Hoffman, G.E., Zornetzer, S.F. y Vale, W.W. (1984). Hypothalamic grafts and neuroendocrine cascade theories of aging. En: Sladek, J.R. y Gash, D.M. (Eds.) *Neural transplants: development and function*. Plenum, New York. 205-222.
- Rolls, E.T., Rolls, B.J., Kelly, P.H., Shaw, S.G., Wood, R.J. y Dale, R. (1974). The relative attenuation of self-stimulation, eating and drinking produced by dopamine-receptor blockade. *Psychopharmacologia.* 38: 219-230.
- Romo, R. y Schultz, W. (1987). Neuronal activity preceding self-initiated or externally timed arm movements in area 6 of monkey cortex. *Exp. Brain Res.* 67: 656-662.
- Romo, R., Scarnati, E. y Schultz, W. (1992). Role of primate basal ganglia and frontal cortex in the internal generation of movements. II. Movement related activity in the anterior striatum. *Exp. Brain Res.* 91: 385-395.
- Romo, R. y Schultz, W. (1992). Role of primate basal ganglia and frontal cortex in the internal generation of movements. III. Neuronal activity in the supplementary motor area. *Exp. Brain Res.* 91: 396-407.
- Rose, G., Gerhardt, G., Stromberg, I., Olson, L. y Hoffer, B. (1985). Monoamine release from dopamine-depleted rat caudate nucleus reinnervated by substantia nigra transplants: an in vivo electrochemical study. *Brain Res.* 341: 92-100.
- Rosenberg, M.B., Friedmann, T., Robertson, R.C., Tuszynski, M., Wolf, J.A., Breakefield, O.X. y Gage, F.H. (1988). Grafting genetically modified cells to the damaged brain: restorative effects of NGF expression. *Science.* 242: 1575-1578.
- Rosengarten, H., Schweitzer, J.W. y Friedhoff, A.J. (1986). Selective dopamine D2 receptor reduction enhances a D1 mediated oral dysinesia in rats. *Life Sci.* 39: 29-35.
- Rosenstein, J.M. y Brightman, M.W. (1978). Intact cerebral ventricle as a site for tissue transplantation. *Nature.* 276: 83- 85.
- Roth, R.H. (1979). Dopamine autoreceptors: pharmacology, function and comparison with post-synaptic receptors. *Commun. Psychopharmacol.* 3: 429-445.
- Roth, G.S. (1980). Aging endocrine receptor alterations. En: Schimke, R.T. (Ed.) *Biological mechanisms in aging*. Department of Health and Human Services, Washington, D.C. 678-686.
- Roth, G.S., Henry, J.M. y Joseph, J.A. (1986). The striatal dopaminergic system as a model for modulation of altered neurotransmitter action during aging. Effects of dietary and neuroendocrine manipulations. *Prog. Brain Res.* 70: 473-484.
- Roth, G.S. (1988). Age changes in adrenergic and dopaminergic signal transduction mechanisms: parallels and contrasts. *Neurobiol. Aging.* 9: 63-64.
- Rowlands, G.J. y Roberts, P.J. (1980). Activation of dopamine receptors inhibits calcium-dependent glutamate release from cortico-striatal terminals in vitro. *Eur. J. Pharmacol.* 62: 241- 242.
- Royo, P.E. y Quay, W.B. (1959). Retinal transplantation from fetal to maternal mammalian eye. *Growth.* 23: 313-325.
- Rudolph, M.I., Arqueros, L. y Bustos, G. (1983). L-glutamic acid, a neuromodulator of dopamine transmission in the rat corpus striatum. *J. Neurochem. Int.* 5: 476-486.
- Russell, M.J., Vijayan, V.K., Gibbs, R.B., Geddes, J.W., Jacobson, C.H. y Cotman, C.W. (1990). Long-term survival of neural transplants to senescence in rats. *Exp. Neurol.* 198 (2): 105-108.

- S -

- Saggi, H., Cooksey, J., Dexter, D., Wells, F.R., Lees, A. y Jenner, P. (1989). A selective increase in particulate superoxide dismutase activity in parkinsonian substantia nigra. *J. Neurochem.* 53: 629-697.
- Sakata, M., Farooqui, S.M. y Prasad, C. (1992). Post-transcriptional regulation of loss of rat striatal D2 dopamine receptor during aging. *Brain Res.* 575 (2): 309-314.
- Salach, J.I., Singer, T.P., Castagnoli, N. y Trevor, A. (1984). Oxidation of MPTP by monoamine oxidase A and B and suicide inactivation of the enzymes by MPTP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 125: 831-835.
- Salas, M. y Lorenzana-Jimenez, M. (1980). Effects on neonatal exposure to paint thinner on the development of swimming in rats. *Neurobehav. Toxicol.* 2: 1-5.
- Salas, M. y Lorenzana-Jimenez, M. (1983). Neonatal effects of toluene on the locomotor behavioural development of the rat. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.* 5: 295-299.
- Saltykow, S. (1905). Versuche über Gehirnreplantation, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis reaktiver Vorgänge an den Zellen des Gehirnelementen. *Arch. Psychiatr.* 40: 329-388.
- Samorajski, T., Delany, C. y Durham, L. (1985). Effect of exercise on longevity, body weight, locomotor performance, and passive-avoidance memory of C57BL/6J mice. *Neurobiol. Aging.* 6: 17-24.
- Saner, A. y Thoenen, H. (1971). Model experiments on the molecular mechanism of action of 6-hydroxydopamine. *Mol. Pharmacol.* 7: 147-154.
- Sang, K.H.L., Mignot, E., Gilbert, J.C., Huguet, R., Aquino, J.P., Regnier, O. y Devynck, M.A. (1993). Platelet cytosolic free calcium concentrations is increased in aging and Alzheimer disease. *Biol. Psychiat.* 33: 391-393.
- Santucci, A.C., Kanof, P.D. y Haroutunian, V. (1993). Cholinergic marker deficits induced by lesions of the nucleus basalis of Meynerts are attenuated by nerve growth factor in young but not in aged F344 rats. *Brain Res.* 609 (1-2): 327-332.
- Savolainen, H. (1978). Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in rat brain. *Res. Comm. Chem. Pharmacol.* 21: 173-137.
- Sawada, M. y Carlson, J.C. (1987). Changes in superoxide radical and lipid peroxide formation in the brain and liver during the lifetime of the rat. *Mech. Ageing Dev.* 41: 125-137.
- Sawle, B.V., Bloomfield, P.M., Bjorklund, A., Brooks, D.J., Brundin, P., Leenders, K.L., Lindvall, O., Marsden, C.D., Rehnström, S., Widner, H. y Frackowiak, R.S.J. (1992). Transplantation of fetal dopamine neurons in Parkinson's disease: PET 6-L-Fluorodopa studies in two patients with putaminal implants. *Ann. Neurol.* 31: 166-173.
- Scandalio, J.G. (Ed). (1992). Molecular biology of free radical scavenging systems. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Scapa, M., Rigo, A., Vigilio, P., Stevanato, R., Bracco, F. y Battistin, L. (1987). Age dependence of the level of the enzymes involved in the protection against active oxygen species in the rat brain. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 185: 129-133.
- Schaefer, G.J. y Holtzman, S.G. (1979). Free-operant and autotitration brain self-stimulation procedures in the rat: a comparison of drug-effects. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 10: 127-135.
- Schaefer, G.J. y Michael, R.P. (1980). Acute effects of neuroleptics on brain self-stimulation thresholds in rats. *Psychopharmacology.* 67: 9-15.
- Schaefer, G.J. y Michael, R.P. (1984). Drug interactions on spontaneous locomotor activity in rats. *Neuropharmacology.* 23: 909-914.
- Schanne, F.A., Kane, A.B., Young, E.E., y Farber, J.L. (1979). Calcium dependence of toxic cell death: a final common pathway. *Science.* (206) 4419: 700-702.

- Schell, G.R. y Strick, P.L. (1984). The origin of thalamic inputs to the arcuate premotor and supplementary motor areas. *J. Neurosci.* 4: 539-560.
- Schenk, F., Contant, B. y Werffeli, P. (1990). Intrahippocampal cholinergic grafts in aged rats compensate impairments in a radial maze and in place learning. *Exp. Brain Res.* 81 (3): 641-650.
- Scherman, D., Desnos, C. Darcheri, F., Pollak, P., Javoy-Agid, F. y Agid, Y. (1989). Striatal dopamine deficiency in parkinson's disease: role of aging. *Ann. Neurol.* 26: 551-557.
- Scheibel, M.E. y Scheibel, A.B. (1977). Differential changes with aging in old and new cortices. *Adv. Behav. Biol.* 23: 39-58.
- Schimizu, K., Yamada, M., Matsui, Y., Tamura, K., Ioriichi, S. y Mogami, H. (1990). Neural transplantation in mouse Parkinson's disease. *Stereotac. Funct. Neurosurg.* 54-55: 353-357.
- Schmidt, M.J. y Thornberry, J.F. (1978). Cyclic AMP and cyclic GMP accumulation in brain regions of young, old and aged rats. *Brain Res.* 139: 169-177.
- Schmidt, R.H., Bjorklund, A. y Stenevi, U. (1981). Intracerebral grafting of dissociated CNS tissue suspensions: a new approach for neuronal transplantation to deep brain sites. *Brain Res.* 218: 347-356.
- Schmidt, R.H., Ingvar, M., Lindvall, O., Stenevi, U. y Bjorklund, A. (1982). Functional activity of substantia nigra grafts reinnervating the striatum: neurotransmitter metabolism and (C-14)- deoxy-D-glucose autoradiography. *J. Neurochem.* 38 (3): 737-748.
- Schmidt, R.H., Bjorklund, A., Stenevi, U., Dunnett, S.B. y Gage, F.H. (1983). Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. Activity of intrastriatal nigral suspension implants as assessed by measurement of dopamine synthesis and metabolism. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 522: 19-28.
- Schreck, R. y Baeuele, A. (1991). A role for oxygen radicals as second messengers. *Trends Cell Biolo.* 1: 39-42.
- Schultz, W. y Romo, R. (1988). Neuronal activity in the monkey striatum during the initiation of movements. *Exp. Brain Res.* 71: 431-436.
- Schultz, W. y Romo, R. (1992). Role of primate basal ganglia and frontal cortex in the internal generation of movements. I. Preparatory activity in the anterior striatum. *Exp. Brain Res.* 91: 363-387.
- Schumacher, J.M., Short, M.P., Hyman, B.T., Breakefield, X.O., y Isacson, O. (1991). Intracerebral implantation of nerve growth factor producing fibroblasts protects striatum against neurotoxic levels of excitatory amino acids. *Neurosci.* 45: 561-570.
- Schvarcz, J.R., Devoto, M., Meiss, R., Torrieri, A., Genero, M., y Armando, I. (1990). Multiloci stereotactic transplantation of autologous adrenal medullary tissue to the putamen and caudatum in Parkinson's disease. Technical note. *Stereotactic. Funct. Neurosurg.* 45-55: 277-281.
- Schwartz, R., Skolnick, P. y Paul, S.M. (1988). Regulation of gamma-aminobutyric acid barbiturate receptor-gated chloride ion flux in brain vesicles by phospholipase A2: possible role of oxygen radicals. *J. Neurochem.* 50: 565-571.
- Schwartz, C.J. Valente, A.J., Sprague, E.A., Kelly, J.L. y Nerem, R.M. (1991). The pathogenesis of atherosclerosis: an Overview. *Clin. Cardiol.* 14: 1-12.
- Scott, B., Leu, J. y Cinader, B. (1988). Effects of aging on neuronal electrical membrane properties. *Mech. Aging Dev.* 44: 203-214.
- Seeman, P., Bzowej, N.H., Guan, H.G., Bergeron, C., Beker, L.E., Reynolds, G.P., Bird, E.D., Reiderer, P., Jellinger, K., Watanabe, S. y Tuertellotte, W.W. (1987). Human brain dopamine receptors in children aging adults. *Synapse.* 1: 399-404.
- Selemon, L.D. y Goldman-Rakic, P.S. (1985). Longitudinal topography and interdigitation of corticostriatal projections in the rhesus monkey. *J. Neurosci.* 5: 776-794.
- Selkoe, D.J., Ihara, Y. y Salazar, F.J. (1982a). Alzheimer's disease: insolubility of partially purified paired helical filaments in sodium dodecyl sulfate and urea. *Science.* 215: 1243-1245.

- Selkoe, D.J., Abraham, C. y Ihara, Y. (1982b). Brain transglutaminase: in vivo crosslinking of human neurofilament proteins in insoluble polymers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 79: 60-70.
- Semsei, I., Rao, G., y Richardson, A. (1991). Expression of superoxide dismutase and catalase in rat brain as a function of age. *Mech. Ageing. Dev.* 58: 13-19.
- Sengstock, G.J. Olanow, C.W., Menzies, R.A., Dunn, A.J., y Arendash, G.W. (1993). Infusion of iron into the rat substantia nigra - nigral pathology and dose dependent loss of striatal dopaminergic markers. *J. Neurosci. Res.* 35: 67-82.
- Severson, J.A. y Finch, C.E. (1980). Reduced dopaminergic binding during aging in the rodent striatum. *Brain Res.* 192: 147-162.
- Severson, J.A., Marcusson, J., Winblad, B. y Finch, C.E. (1982). Age-correlated loss of dopaminergic binding sites in human basal ganglia. *J. Neurochem.* 39: 1623-1631.
- Shetty, A.K., Gopinath, G. y Tandon, P.N. (1991). Fetal nigral transplants in the lateral ventricle of adult rats. A long term morphological study. *Dev. Neurosci.* 13 (1): 1-10.
- Shibata, S., Kodama, K., Koga, Y., Ueki, S. y Watanabe, S. (1993). Improving effects of acetylcholine receptor agonist on a deficit of 2-deoxyglucose uptake in cerebral cortical and hippocampal slice in aged and af64a-treated rats. *Brain Res.* 603(2): 248-254.
- Shimizu, N. y Ohnishi, S. (1973). Demonstration of nigro-neostriatal tract by degeneration silver method. *Exp. Brain Res.* 17: 133-138.
- Shock, N.W. (1977). Systems Integration. En: Finch, C.E. y Hayflick, L. (Eds). *Handbook of the biology of aging*. Van- Nostrand- Reinhold. Princeton, NJ. 639-665.
- Shoulson, I. (1989). Deprenyl and -tocopherol antioxidative therapy of Parkinsonism (DATATOP). *Acta Neurol. Scand.* 126: 171- 175.
- Shults, C.W., O'Connor, D.T., Baird, A., Hill, R., Goetz, C.G., Watts, R.L., KLawans, H.L., Carvey, P.M., Bakay, R.A., Gage, F.H. y Hoi, S.O. (1991). Clinical improvement in Parkinsonian patients undergoing adrenal to caudate transplantation is not reflected by chromogranin A or Basic Fibroblast growth factor in ventricular fluid. *Exp. Neurol.* 111: 276-281.
- Sieger, A. y Olson, L. (1977). Quantitation of fiber growth in transplanted central monoamine neurons. *Cell Tissue Res.* 179:285-316.
- Sies, H. (1991). *Oxidative stress, oxidants and antioxidants*. Academic Press. New York. 1-39.
- Siesjo, B.K. (1988). Acidosis and ischemic brain damage. *Neurochem. Phatol.* 9: 31-88.
- Siesjo, B.K. (1989). Free radicals and brain damage. *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.* 1: 165-211.
- Siesjo, B.K. y Bengtsson, F. (1989). Calcium, fluxes, calcium antagonists, and calcium-related pathology in brain aschemia, hypoglycemia, and spreading depression: a unifying hypothesis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 9: 127-140.
- Simonds, G.R. y Freed, W.J. (1990). Effects of intraventricular substantia nigra allografts as a function of donor age. *Brain Res.* 530: 12-19.
- Skre, H. (1972). Neurobiological signs in normal populations. *Acta Neurol. Scand.* 48: 575-606.
- Sladek, J.R. y Sladek, C.D. (1979). Relative quantitation of monoamine histofluorescence in young and old non-human primates. En: Finch, D.E., Potter, D.E. y Kenny, A.D. (Eds.) *Parkinson's disease II. Aging and Neuroendocrine relationships*. Plenum, New York. 241-250.
- Sladek, J.R. y Gash, D.M. (1982). The use of neural grafts as a mean of restoring neuronal loss associated with aging. *Anat. Rec.* 202: 178-180.
- Sladek, J.R., Gash, D.M. y Collier, T.J. (1984). noradrenergic neurons transplants into the third ventricle of aged F344 rats improve inhibitory avoidance memory performance. *Soc. Neurosci. Abst.* 10: 772.

- Sladek, J.R. y Gash, D.M. (1988). Nerve cell grafting in Parkinson's disease. *J. Neurosurg.* 68: 337-351.
- Smith, R.C., Strong, J.R. y Strong, J. (1980). Aging and the Behavioral Effects of dopamine Agonists in rodents. *Psychopharmacology of aging.* Spectrum Publ. New York. 135-143.
- Smith, G.M., Miller, R.H. y Silver, J. (1987). Astrocyte transplantation induces callosal regeneration in postnatal acallosal mice. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) Cell and tissue transplantation into the adult brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 495: 138-152.
- Smith, D.O. (1987). Changes in cellular neurophysiology during aging. *Rev. Biol. Res. Ageing.* 3: 207-221.
- Smith, Y. y Parent, A. (1988). Neurons of the subthalamic nucleus in primates display glutamate but not GABA immunoreactivity. *Brain Res.* 453: 353-356.
- Smith, I.D. y Grace, A. (1992). Role of the subthalamic nucleus in the regulation of nigral dopamine neuron activity. *Synapse.* 12: 287-303.
- Smith, C.D., Carney, J.M., Tatsumo, T., Stadlam, E.R., Floyd, R.A. y Markesbery, W.R. (1992). Protein oxidation in aging brain. En: Franceschi, C., Crepaldi, G., Cristofalo, V.J. y Vijg, J. (Eds.) Aging and cellular defense mechanisms. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 663: 110-119.
- Soderberg, M., Edlund, C., Kristensson, K. y Dallner, G. (1990). Lipid composition of different regions of the human brain during aging. *J. Neurochem.* 54: 415-423.
- Sofic, E., Reiderer, P., Heinsen, H., Beckmann, H., Reynolds, G.P. y Hebenstreit, G. (1988). Increased iron (III) and total iron content in postmortem substantia nigra of parkinsonian brain. *J. Neural Transm.* 74: 199-205.
- Sofic, E., Paulus, W., Jellinger, K., Reiderer, P. y Youdim, M.B.H. (1991). Selective increase of iron in the substantia nigra zona compacta of parkinsonian brains. *J. Neurochem.* 56: 978-982.
- Sokol, R.J. (1989). Vitamin E and neurologic function in man. *Free Rad. Biol. Med.* 6: 189-207.
- Sorensen, J.C., Castro, A.J., Klausen, B. y Zimmer, J. (1992). Projections from fetal neocortical transplants placed in the frontal neocortex of newborn rats.: a phaseolus vulgaris-leucoagglutinin tracing study. *Exp. Brain Res.* 92: 299-309.
- Sotelo, C. y Alvarado-Mallart, R.M. (1987). Cerebellar transplantation in adult mice with heredo-degenerative ataxia. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) Cell and tissue transplantation into the adult brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 495: 138-152.
- Sotelo, C. y Alvarado-Mallart, R.M. (1991). The reconstitution of cerebellar circuits. *Trends Neurosci.* 14 (8): 350-355.
- Spemann, H. (1921). Die erzeugung tierischer chimären durch heteroplastische embryonale transplation zwischen Triton cristatus und teaniqtus. *Arch. Entwicklungsmech. Org.* 48: 533-542.
- Spemann, H. y Mangold, H. (1924). Über induktion von embryonalanlagen durch implantation artfremder organisatoren. *Arch. Mikrosk. Anat. Entwicklungsmech.* 100: 599-638.
- Spencer, H.J. (1976). Antagonism of cortical excitation of striatal neurons by glutamic acid diethyl ester: evidence from glutamic acid as an excitatory transmitter in the rat striatum. *Brain Res.* 102: 91-101.
- Spencer, D.D., Robbins, R.J., Naftolin, F., Marek, K.L., Vollemer, T., Leranth, C., Roth, R.H., Price, L.H., Giedde, A., Bunney, B.S., Sass, K.J., Elsworth, J.D., Kier, E.L., Makich, R., Hoffer, P.B., Redmond, D.E. (1992). Unilateral transplantation of human fetal mesencephalic tissue into the caudate nucleus of patients with Parkinson's disease. *New Eng. J. Med.* 327: 1541-1548.
- Spenger, C., Barth, A., Studer, L., Holayt, L., Dreher, E., y Seiler, R.W. (1992). Current aspects of transplantation of fetal mesencephalic neurons in Parkinson's disease: review of the literature and perspectives. for the future. *Med. Hyg.* 50: 2529-2531.
- Spiegel, E.A., Wycis, H.T. y Freed, H. (1952). Stereoccephalotomy, thalamotomy and related procedures. *J. Am. Med. Assoc.* 148: 446-451.

- Spirduso, W.W. (1982). Physical Fitness in relation to motor aging. En: Mortimer, J.A., Pirozzolo, F.J. y Maletta, G.J. (Eds.), *The aging motor system*. Prager, New York. 120-151.
- Spirduso, W.W., MacRae, H.H., MacRae, P.G., Prewitt, J. y Osborne, L. (1988). Exercise effects on aged motor function. En: Joseph, J.A. (Ed.), *Central determinants of age-related declines in motor function*. Ann. NY. Acad. Sci. 515. 363-375.
- Sprott, R.L. y Eleftheriou, B.E. (1974). Open field behavior in aging inbred mice. *Gerontologia*. 20: 155-162.
- Sprott, R.L. (1988). Age related Variability. En: Joseph, J.A. (Ed.), *Central determinants of age-related declines in motor function*. Ann. NY. Acad. Sci. 515. 121-123.
- Stamford, J.A. (1989). Development and ageing of the rat nigrostriatal dopamine system studied with fast cyclic voltammetry. *J. Neurochem.* 52 (5): 1582-1589.
- Stein, L. (1964). Self-stimulation of the brain and central stimulant action of amphetamine. *Fed. Proc.* 23: 836-850.
- Stein, L. (1968). Chemistry of reward and punishment. En: Efron, D.H. (Ed.), *Psychopharmacology. A Review of Progress*. Washington, GPO. 105-123.
- Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Khoo, J.E. and Witztum, J.L. (1989). Beyond cholesterol. Modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Eng. J. Med.* 320: 915-923.
- Steinbusch, H.W.M., Beek, A., Frankhuyzen, A.L., Tonnaer, J.A.D.M., Gage, F.H. y Bjorklund, A. (1987). Functional activity of raphe neurons transplanted to the hippocampus and caudate-putamen: an immunohistochemical and neurochemical analysis in adult and aged rats. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) *Cell and tissue transplantation into the adult brain*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 495: 138-152.
- Stellar, S. (1992). Transplantation of adrenal medulla and omentum to the putamen by a transinsular pathway for Parkinson's disease. *Neurosurgery*. 30: 143-144.
- Stenevi, U., Bjorklund, A. y Svendgaard, N.A. (1976). Transplantation of central and peripheral monoamine neurons to the adult rat brain: techniques and conditions for survival. *Brain Res.* 114: 1-20.
- Stenevi, U., Bjorklund, A. y Dunnett, S.B. (1980). Functional reinnervation of the denervated neostriatum by nigral transplants. *Peptides*. 1 Suppl 1: 111-116.
- Stern, G.M., Walters, A.M., Clarke, D.J. y Bradford, H.F. (1992). Cultured human fetal and rat brain tissue and Parkinson's disease. *Lancet*. 339: 431.
- Sternberger, N.H., Sternberger, L.A. y Ulrich, J. (1985). Aberrant neurofilament phosphorylation in Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 82: 4274-4276.
- Stocker, R. y Frei, B. (1991). Endogenous antioxidants defences in human blood plasma. En: Sies, H. (Ed.) *Oxidative stress: Oxidants and antioxidants*. Academic Press. London. 45-56.
- Stoddard, S.L., Ahlskog, J.E., Kelly, P.J., Tyce, G.M., van Heerden, J.A., Zinsmeister, A.R. y Carmichel, S.W. (1989a). Decreased adrenal medullary catecholamines in adrenal transplanted parkinsonian patients compared nephrectomy patients. *Exp. Neurol.* 104: 218-222.
- Stoddard, S.L., Tyce, G.M., Ahlskog, J.E., Zinsmeister, A.R. y Carmichel, S.W. (1989b). Decreased catecholamine content in parkinsonian adrenal medulae. *Exp. Neurol.* 104: 22-27.
- Stoessl, A.J., Martin-Iverson, M.T., Barth, T.M., Dourish, C.T. y Iversen, S.D. (1989). Effects of aging on the behavioural responses to dopamine agonist: decreased yawning and locomotion, but increased stereotypy. *Brain Res.* 495: 20-30.
- Stoff, J.C., De Boer, T., Sminia, P. y Mulder, A.H. (1982). Stimulation of D₂ dopamine receptors in rat neostriatum inhibits the release of acetylcholine and dopamine but not affect the release of GABA, glutamate or serotonin. *Eur. J. Pharmacol.* 84: 211-214.
- Strick, P.L. (1976). Thalamocortical projections to motor and supplementary motor areas. *J. Neurophysiol.* 39: 1020-1031.

- Stromberg, I., Herrera-Marschitz, M., Hultgren, L., Ungerstedt, U. y Olson, L. (1984). Adrenal medullary implants in the dopamine-denervated rat striatum. I. Acute catecholamine levels in graft and host caudate as determined by HPLC-electrochemistry and fluorescence histochemical image analysis. *Brain Res.* 297: 41-51.
- Stromberg, I., Herrera-Marschitz, M., Ungerstedt, U., Ebendal, T. y Olson, L. (1985). Chronic implants of chromaffin tissue into the dopamine-denervated striatum. Effects on NGF on graft survival, fiber growth and rotational behavior. *Exp. Brain Res.* 60: 335-349.
- Stromberg, I., Bygdeman, M., Goldstein, M., Sieger, A. y Olson, L. (1986). Human fetal substantia nigra grafted to the dopamine-denervated striatum of immunosuppressed rats: evidence for functional reinnervation. *Neurosci. Lett.* 71: 271-276.
- Strong, R., Samorajski, T. y Gottesfeld, Z. (1984). High affinity uptake of neurotransmitters in rat neostriatum: effects of aging. *J. Neurochem.* 43: 1766-1768.
- Strong, R. (1988). Regionally Selective manifestations of neostriatal aging. En: Joseph, J.A. (Ed.) Central determinants of age-related declines in motor function. *Ann. New York Acad. Sci.* 515: 161-177.
- Svensson, L., Wu, C.P., Hulthe, P., Johannessen, K. y Engel, J.A. (1993). Effect of aging on extracellular ascorbate concentration in rat brain. *Brain Res.* 609: 36-40.
- Szabo, J. (1967). The efferent projections of the putamen in the monkey. *Exp. Neurol.* 19: 463-476.
- T -
- Takashima, h., Poltorak, M., Becker, J.B. y Freed, W.J. (1992). Effects of adrenal medulla grafts on plasma catecholamines and rotational behavior. *Exp. Neurol.* 118: 24-34.
- Tanaka, Y. y Ando, S. (1990). Synaptic aging as revealed by changes in membrane potential and decrease activity of Na, K-ATPase. *Brain Res.* 506: 46-52.
- Tanaka, M., Sotomatsu, A., Kanai, H. y Hirai, S. (1990). Iron dependent cytotoxic effects of dopa on cultured neurons of the dorsal root ganglia. *Clin. m Neurol.* 30: 379-383.
- Tanaka, M., Sotomatsu, A., Kanai, H. y Hirai, S. (1991). Dopa and dopamine cause cultured neuronal death in presence of iron. *J. Neurol. Sci.* 101 (2): 198-203.
- Taniuchi, M., Clark, H.B. y Johnson, E.M. (1986). Induction of nerve growth factor receptor in Schwann cell after axotomy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83: 4094-4098.
- Tanji, J., Taniguchi, K. y Saga, T. (1980). Supplementary motor area: neuronal response to motor instructions. *J. Neurophysiol.* 43: 60-68.
- Tanji, J. y Kurata, K. (1982). Comparison of movement-related activity in two cortical motor areas of primates. *J. Neurophysiol.* 48: 633-653.
- Tanji, J. y Kurata, (1985). Contrasting neuronal activity in supplementary and precentral motor cortex of monkeys I: Responses to instructions determining motor responses to forthcoming signals of different modalities. *J. Neurophysiol.* 53: 129-141.
- Tanner, C.M., Goetz, C.G., Gilley, D.W., Shannon, K.M., Stebins, G.T., Klawans, H.L., Wilson, R.S. y Penn, R.M. (1988). Behavioural aspects of intrastriatal adrenal medulla transplants surgery in Parkinson's disease. *Neurology.* 38: 143.
- Tappel, A.L. (1973a). Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed. Proc.* 32: 1870-1874.
- Tappel, A.L. (1973b). Effect of antioxidants and nutrients on lipid peroxidation and fluorescent products and aging parameters in the mouse. *J. Gerontol.* 28: 415-424.
- Tatton, W.G., Greenwood, C.E., Verrier, M.C., Holland, D.P., Kwan, M.M. y Biddle, F.E. (1991a). Different rates of age-related loss for four murine monoaminergic neuronal populations. *Neurobiol. Aging.* 12 (5): 543-556.
- Tatton, W.G., Greenwood, C.E., Salo, P.T. y Senluk, N.A. (1991b). Transmitter synthesis increase in substantia nigra neurons of aged mice. *Neurosci. Lett.* 131: 179-182.

- Tauck, D.L. y Ashbeck, G.A. (1990). Glycine synergistically potentiates the enhancement of LTP induced by a sulfhydryl reducing agent. *Brain Res.* 519: 129-132.
- Tayarani, I., Chaudiere, J., Lefauconnier, J.M., y Bourre, J.M. (1987). Enzymatic protection against peroxidative damage in isolated brain capillaries. *J. Neurochem.* 48: 1399-1410.
- Taylor, J.R., Elsworth, J.D., Roth, R.H., Sladek, J.R., Collier, T.J., y Redmond, D.E. (1991). Grafting of fetal substantia nigra to striatum reverse behavioral deficits induced by MPTP in primates: a comparison with other types of grafts as controls. *Exp. Brain Res.* 85: 335-348.
- Temlett, J.A. (1990). Transplantation, fetuses, and Parkinson's disease. *S. Afr. Med. J.* 78: 710-711.
- Teolato, S., Calderini, G., Bonetti, A.C., y Toffano, G. (1983). Calmodulin content in different brain areas of aging rats. *Neurosci. Lett.* 38: 57-60.
- Tetrud, J.W. y Langston, J.W. (1989). The effect of deprenyl (Selegiline) on the natural history of Parkinson's disease. *Science.* 245: 519-522.
- Thach, W.T. (1978). Discharge of cortical neurons related to two maintained postures and two prompt movements. *J. Neurophysiol.* 41: 654-676.
- Thal, L.J., Horowitz, S.G., Dvorkin, B. y Makman, H. (1980). Evidence for loss of brain [³H]spiroperidol and [³H]ADTN binding sites in rabbit brain with aging. *Brain Res.* 152: 626-632.
- The Parkinsons Study Group. (1989) Effect Of Deprenyl on the progresion of disability in early Parkinson's disease. *New Eng. J. Med.* 321: 1364-1371.
- Thesleff, S. (1981). Aminopyridines and synaptic transmission. *Neuroscien.* 5: 1413-1419.
- Thoenen, H. y Tranzer, J.P. (1973). The pharmacology of 6-hydroxydopamine. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 132: 169-180.
- Thompson, W.G. (1890). Succssesful brain grafting. *N. Y. Med J.* 51: 701-702.
- Tidd, C.W. (1932). The transplantation of spinal ganglia in the white rat: a study of the morphological changes in surviving cells. *J. Comp. Neurol.* 531-543.
- Timiras, P.S., Hudson, D.B. y Segall, P.E. (1984). Life time brain dopamine: Regional effects of age and precursor availability. *Neurobiol. Aging.* 5: 235-242.
- Tresco, P.A., Winn, S.R., Aebischer, P. (1992). Polymer encapsulated neurotransmitter secreting cells. Potential treatment for Parkinson's disease. *Asaio. J.* 38: 17-23.
- Tretiakoff, C. (1919). Contribution a l'étude de l'anatomie pathologique du locus niger de Soemmering avec quelques deductions relatives à la pathogenie des troubles due tonus musculariet de la maladie de Parkinson. *Université de Paris, These de Paris.*
- Trump, B.F. y Berezsky, K. (1983). The role of calcium deregulation in cell injury and cell death. *Surv. Synth. Pathol. Res.* 18: 251-263.
- Tulipan, N. (1988). Brain transplants: a new approach to the therapy of neurodegenerative disease. *Neurol. Clin.* 6: 405-420.
- U -
- Umeda, Y. y Surni, T. (1989). Evoked release of endogenous amino acids from rat striatal slice and its modulation. *Eur. J. Pharmacol.* 163: 291-297.
- Ungerstedt, U. (1968). 6-hydroxydopamine induced degeneration of central monoaminergic neurons. *Eur. J. Phamacol.* 5: 107-110.
- Ungerstedt, U. y Arbuthnott, G.W. (1970). Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res.* 24: 485-493.
- Ungerstedt, U. (1971a). Postsynaptic supersensitivity after 6-OHDA induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 367: 69-93.

- Ungerstedt, U. (1971b). Striatal dopamine release after amphetamine or nerve degeneration revealed by rotational behavior. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 367: 49-93.
- Ungerstedt, U. (1971c). Dipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 367: 95: 121.
- V -
- Vanella, A., Villa, R.R., Gorini, A., Campisi, A. y Giuffrida-Stella, A.M. (1989). Superoxide dismutase and cytochrome oxidase activities in light and heavy synaptic mitochondria from rat cerebral cortex during aging. *J. Neurosci. Res.* 22: 351-355.
- Velasco, F., Velasco, M., Cuevas, H.R., Jurado, J., Olvera, J., y Jimenez, F. (1991). Autologous adrenal medullary transplants in advanced Parkinson's disease with particular attention to the selective improvement in symptoms. *Stereotactic. Funct. Neurosurg.* 57: 195-212.
- Venero, J.L., Machado, A. y Cano, J. (1991a). Age effects on monoamine turnover of the rat substantia nigra. *Brain Res.* 557: 109-114.
- Venero, J.L., Machado, A. y Cano, J. (1991b). Turnover of dopamine and serotonin and their metabolites in the striatum of aged rats. *J. Neurochem.* 56 (6): 1940-1948.
- Vescovi, A., Gebbia, M., Cappelletti, G., Parati, E.A. y Santagostino, A. (1993). Interactions of manganese with human brain glutathione S transferase. *Toxicology.* 57: 183-191.
- Vitorica, J., Machado, A. y Satrustregui, J. (1984). Age dependent variations in peroxide utilizing enzymes from rat brain mitochondrial and cytoplasm. *J. Neurochem.* 42: 351-356.
- Vlessis, A.A., Widener, L.L. y Bartos, D. (1990). Effect of peroxide, sodium and calcium on brain mitochondrial respiration potential role of cerebral ischemia an reperfusion. *J. Neurochem.* 54: 1412-1418.
- Volicer, L. y Crino, P.B. (1990). Involvement of free radicals in dementia of the Alzheimer type: a hypothesis. *Neurobiol. Aging.* 11: 567-571.
- W -
- Walker, J.B. y Walker, J.P. (1973). Properties of adenylate cyclase from senescent rat brain. *Brain Res.* 54: 391-396.
- Wallace, J.E., Krauter, E.E. y Campbell, B.A. (1980). Motor and reflexive behavior in the aging rat. *J. Gerontol.* 35: 364-370.
- Wang, S.Z., Zhu, S.Z., Joseph, J.A. y El-Fakahani, E.E. (1992). Comparison of the level of mRNA encoding m1 and m2 muscarinic receptors in brains of young and aged rats. *Neurosci. Lett.* 145: 149-152.
- Waters, C., Itabashi, H.H., Apuzzo, M.L.J. y Weiner, L.P. (1990). Adrenal to caudate transplantation-postmortem study. *Mov. Disord.* 5: 248-250.
- Waters, C.H., Apuzzo, M.L.J., Neal, J.H. y Weiner, L.P. (1992). Long term follow up of adrenal medullary transplantation for Parkinson's disease. *J. Geriatr. Psychiatry. Neurol.* 5: 35-39.
- Wauquier, A. y Nimegeers, C.J.E. (1972). Intracranial self-stimulation in rats as a function of various stimulus parameters. II influence of haloperidol, primozide and pipamperone on medial forebrain bundle stimulation with monopolar electrodes. *Psychopharmacologia.* 27: 191-202.
- Weiner, I. y Feldon, J. (1987). Facilitation of latent inhibition by haloperidol in rats. *Psychopharmacology.* 91: 248-253.
- Weinrich, M. y Wise, S.P. (1982). The premotor cortex of the monkey. *J. Neurosci.* 2: 1329-1345.
- Welford, A.T. (1982). Motor skills and aging. En: Mortimer, J.A., Pirozzolo, F.J. y Maletta, G.J. (Eds.), *The aging motor system.* Prager, New York. 152-187.
- Welford, A.T. (1984). Between bodily changes and performance: some possible reasons for slowing with age. *Exp. Aging Res.* 10(2): 73-87.
- Wenzel, J. y Barlehner, E. (1969). Zur regeneratio des cortex cerebri bei mus musculus. II. morphologische befunde regenerative vorgange nach replantation eines cortexabschnittes. *Z. Mikrosk. Anat. Forsh.* 81: 32-70.

- Wets, K.M., Sinden, J., Hodges, H., Allen, Y. y Marchbanks, R.M. (1991). Specific brain protein change correlated with behaviorally effective brain transplants. *J. Neurochem.* 57: 1661- 1670.
- Wiestler, O.D., Brustle, O., Eibl, R.H., Radner, H., Von-Deimling, A., Plate, K., Aguzzi, A. y Kleihues, P. (1992). A new approach to the molecular basis of neoplastic transformation in the brain. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 18: 443-453.
- Widner, H., Brundin, P., Rehncrona, S., Gustavii, B., Frackowiak, R., Leenders, K.L., Sawle, G., Rothwel, J.C., Marsden, C.D., Bjorklund, A. y Lindvall, O. (1991). Transplanted allogenic fetal dopamine neurons survive and improve motor function in idiopathic Parkinson's disease. *Transplant. Proc.* 23: 793-795.
- Widner, H., Tetrud, J., Rehncrona, S., Snow, B., Brundin, P., Gustavi, B., Bjorklund, A., Lindvall, O. y Langston, J.W. (1992). Bilateral fetal mesencephalic grafting in two patients with parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *New Eng. J. Med.* 327: 1556-1563.
- Willis, R.A. (1935). Experiments on the intracerebral implantation of embryo tissue in rats. *Proc. R. Soc. B. Ser.* 117: 400-412.
- Wilson, C.J. (1990). Basal Ganglia. En: Sheperd, G. (Ed.) *The synaptic organization of the brain.* Oxford Press. N.Y. pp. 279- 316.
- Wise, R.A. (1978). Catecholamine theories of reward: a critical review. *Brain Res.* 152: 215-247.
- Wise, R.A. (1981). Intracranial self-stimulation: mapping against the lateral boundaries of the dopaminergic cells of the substantia nigra. *Brain Res.* 213: 190-194.
- Wise, R.A. (1982). Neuroleptics and operant behavior: the anhedonia hypothesis. *Behav. Brain Sci.* 5: 39-53.
- Wise, S.P. y Mauritz, K.H. (1983). Motor aspects of the coorelated neuronal activity in premotor cortex of the rhesus monkey. *Brain Res.* 260: 301-305.
- Wolf, M.E., LeWitt, P.A., Bannon, M.J., Dragovic, L.J. y Kapatos, G. (1991). Effect of aging on tyrosine hydroxylase protein content and relative number of dopamine nerve terminals in human caudate. *J. Neurochem.* 56 (4): 1191-1200.
- Wong, D.F., Wagner, H.N., Dannals, R.F., Links, J.M., Frost, J.J., Ravert, H.T., Wilson, A.A., Rosenbaum, A.E., Gjedde, A., Duglass, K.H., Petronis, J.D., Folsteln, M.F., Tuong, J.K., Burns, H.D. y Kuhar, M.J. (1984). Effects of age on dopamine and serotonin receptors measured by positron tomography in the living human brain. *Science.* 226: 1393-1396.
- Woolsey, D., Minckler, J., Rezende, N. y Klemme, R. (1944). Human spinal cord transplant. *Exp. Med. Surg.* 2: 93-98.
- Wooten, G.F. (1990). Biochemical basis for levodopa therapy. En: Koller, W.C. y Pavisson, G. (Eds.), *Therapy of Parkinson's disease.* Marcel Dekker, Inc. New York. 169-203.
- Wuerthele, S.M., Olson, L., Freed, W.J., Wyatt, R. y Hoffer, B. (1984). Electrophysiology of substantia nigra transplants. En: Usdin, E., Carlsson, A., Dahlstrom, A. y Engel, J. (Eds.) *Catecholamines: Part B. Neuropharmacology and central nervous System: theoretical aspects.* Alan R Liss, New York. 333-341.
- X -
- Xu, Z.C., Wilson, C.J. y Emison, P.C. (1991). Synaptic potentials evoked in spiny neurons in rat neostriatal grafts by cortical and thalamic stimulation. *J. Neurophysiol.* 65(3): 477- 493.
- Y -
- Yamamoto, B.K. y Davy, S. (1992). Dopaminergic modulation of glutamate release in striatum as measured by microdialysis. *J. Neurochem.* 58: 1736-1742.
- Yokel, R.A. y Wise, R.A. (1975). Increased level pressing for amphetamine after pimozide in rats: Implications for a dopamine theory of reward. *Science.* 107: 547-548.

- Youdim, M.B.H. (1988). Brain iron: neurochemical and behavioral aspects. London. Taylor and Francis. 25-43.
- Youdim, M.B.H., Ben-Shachar, D., Reiderer, P. (1989). Is Parkinson's disease a progressive siderosis of substantia nigra resulting in iron and melanin induced neurodegeneration. *Acta Neurol. Scand.* 126: 47-54.
- Youdim, M.B.H., Ben-Shachar, D. y Reiderer, P. (1991). Iron in brain function and dysfunction with emphasis on Parkinson's disease. *Eur. Neurol. Suppl.* 31: 34-40.
- Young, J.Z. (1942). The functional repair of nervous tissue. *Physiol. Rev.* 22: 318-340.
- Young, W.S., Bonner, T.I. y Brann, M.R. (1986). Effects of dopamine in the striatum *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83: 9827- 9831.
- Young, W. (1987). The post-injury responses in trauma and ischemia: secondary injury or protective mechanisms?. *Cent. Nev. Syst. Trauma.* 4: 27-42.
- Yu, B.P., Masoro, E.J. y McMahan, C.A. (1985). Nutritional Influences on aging of Fischer 344 rats: I. Physical, metabolic and longevity characteristics. *J. Gerontol.* 40: 657-670.
- Z -
- Zeman, R., Kameyama, T., Matsumoto, K., Bernstein, P. y Ellinger, J. (1986). Regulation of protein degradation in muscle by calcium. *J. Biol. Chem.* 260: 1319-1324.
- Zetterstrom, T., Brundin, P., Gage, F.H., Sharp, T., Isacson, O., Dunnett, S.B., Ungerstedt, U. y Bjorklund, A. (1986). In vivo measurement of spontaneous release and metabolism of dopamine from intrastriatal nigral grafts using intracerebral dialysis. *Brain Res.* 362: 344-349.
- Zigmond, M.J. y Stricker, E.M. (1972). Deficits in feeding behavior after intraventricular injection of 6-hydroxydopamine in rats. *Science.* 177: 1211-1214.
- Zigmond, 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 Neuroscien.* 13(7): 290-296.
- Zhou, F.C., Auerbach, S.B. y Azmitia, E.C. (1987). Stimulation of serotonergic neuronal maturation after fetal mesencephalic raphe transplantation into the, 5,7-DHT-lesioned hippocampus of the adult rat. En: Azmitia, E.C. y Bjorklund, A. (Eds.) Cell and tissue transplantation into the adult brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 495: 138-152.
- Zhou, H., Kuyatt, B.L., Kochman, K.A., DeSouza, E.B. y Roth, G.S. (1989). Effect of aging on concentrations of D-2-receptor- containing neurons in the rat striatum. *Brain Res.* 498: 299-307.