

M. DOLGUN
E. KORFALI
İ.H. ULUS
K. AKSOY
C. RAKUNT

Santral Sinir Sistemi Greftleri Üzerine Nöronotrofik Faktörlerin Etkileri

THE EFFECTS OF NEURONOTROPHIC FACTORS
IN IMPLANTED ADRENAL MEDULLA GRAFTS
INTO THE ADULT RAT BRAINS

S.S.K. Okmeydanı Hastanesi Nöroşirurji Bölümü, İSTANBUL
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji, Farmakoloji
Anabilim Dalı, BURSA
19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı,
SAMSUN

Geliş Tarihi: 23 Ocak 1987

SUMMARY

Effects of neuronotrophic factors on the transplanted adult adrenal medulla grafts into the rat brains were investigated after the destruction of the nigro-striatal dopaminergic pathways

Two months after the implantation it was found that the grafts survived and grew well in the host brains but measurements of tyrosine hydroxylase activity showed no significant difference between the control and grafted groups.

The results imply that although adult adrenal medulla grafts survive and grow in the host brains' don't restore the dopaminergic system and neuronotrophic factors has no influence upon them.

Key words: Substantia nigra, neural transplantation; corpus striatum; adrenal medulla, reinnervation

T Kİ Tıp Bil Araş Dergisi C.6, S.1, 1988 73-78

ÖZET

Substantia Nigra (SN) dejenerasyonu yapılarak nigrostriyatul dopaminerjik yolları tahrip edilen erişkin sıçanlarda introparenkimal olarak dopaminerjik sistemin reinnervasyonu için konulan erişkin adrenal medulla greftleri üzerine nöronotrofik faktörlerin etkileri incelendi.

„ Bu amaçla intraventriküler 5-Hidroksidopamin verilerek SN dejenerasyonu oluşturuldu ve korpus striatumları üzerine 2x3 mm'lik kavile açılan sıçanlara erişkin adrenal medulla greftleri ile birlikte neonatal sıçanlardan elde edilen nöronotrofik faktör kondu.

Greftlemeden 2 ay sonra yapılan incelemelerde, greftlerin hacim olarak küçülmesine rağmen mevcut olduktan, ancak tirozin hidrokzilaz ölçümleri sonucu fonksiyon yapmadıkları ve greftin implantasyonunda nöronotrofik faktörlerin etkisinin olmadığı gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Substantia nigra, nöral transplantasyon, korpus striatum, adrenal medulla, reinnervasyon:

T J Research Med Sci V.6, HA, 1988 73-78

Erişkin memelilerde Santral Sinir Sistemi (SSS) rejenerasyonunun olmadığı veya çok az olduğuna dair tartışmalar uzun yıllardan beri yapılmaktadır (4, 21, 22). Son yıllarda yapılan çalışmalarda memelilerin SSS'lerinin myelinli veya az myelinli nöronlarının bir kısmında rejenerasyon yeteneği olduğu gösterilmiştir (9, 10, 13, 30). Ayrıca bu deneylerde memeli beyninin çok elverişli bir transplantasyon yeri olabileceği, nöral veya nöral olmayan dokuların alıcı erişkin beyninde yaşayabileceği de ortaya koyulmuştur (3, 9, 13, 15, 17, 21, 30).

Bu çalışmaların ışığı altında bazı araştırmacılar intraserebral veya intraventriküler 6-Hidroksidopamin (6-OHDA) enjeksiyonlarında substantia nigra (SN) dejenerasyonu yaparak Parkinson hastalığı modeli yaratılmış sıçanlarda dopaminerjik nöron greftlerinin etkilerini incelemişlerdir (10, 13, 19, 30). Bu deneylerin sonucunda fonksiyonların kısmen yerine konulabileceği gösterilmiştir (2, 3, 19, 30).

Gelecekteki yıllarda insanlara uygulanması pratik açıdan zor olabilecek fetal greftlerin yerine olog olarak parkinsonlu hastaların beynine konulabilecek nö-

* XIX. Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Toplantısında tebliğ edilmiştir.

Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri ARAŞTIRMA Dergisi C.6, S.1, 1988
Turkish Journal of RESEARCH in Medical Sciences V.6, N.1, 1988

ronal veya nöronal olmayan, dopamin salgılayabilen dokuların konulması bu konuyu bir adım daha ileri götürebilecektir. Bu noktadan hareket eden Freed ve arkadaşları (12) genç sıçanlardan alınan adrenal medulla greftlerinin yaşlı sıçanlara intraventriküler olarak verilmesinden sonra sıçanların motor fonksiyonlarında düzelme olduğunu saptamışlardır. Fakat bu düzelme bazı yazarların araştırmalarında gözlenememiş ve greftlerin büyük bir kısmı da rezorbe olmuştur (29).

Ayrıca birçok araştırmacı tarafından da gösterildiği gibi erişkin greftler, fetal greftler kadar başarılı olmamaktadır (15, 17, 30). Bu durum lotuslarda ve gençlerde rejenerasyon olayını meydana getirdiği ileri sürülen nöronotrofik faktörlerin etkili olduğunu ve erişkinlerde bu faktörlerin eksikliğinin greftlerin tutmasında rol oynadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızın amacı neonatal sıçanlardan bu faktörü veya faktörleri elde ederek erişkin sıçanlardaki adrenal medulla greftleri üzerindeki etkilerini incelemektir. Bu amaçla intraventriküler 6-OHDA enjeksiyonları ile SN dejenerasyonu yapılarak Parkinson modeli (5, 11) yaratılmış sıçanların korpus striatumlarına (KS) erişkin adrenal medulla greftleri konularak bu greftlerin tutmasında nöronotrofik faktörlerin etkisi araştırıldı. Greftlerin meydana getirebileceği biyokimyasal değişimlerin katekolamin (KA) biosentezinde önemli bir enzim olan Tirozin Hidroksilaz (TOH) (14) ölçümleri ile belirtilmesi amaçlandı.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezinde yapılmıştır.

Deneyde kullanılan hayvanlar aynı merkezde yakın akrabalı (inbred) yetiştirilmiş Rattus Norvegicus Albino/Bursa cinsi dişi sıçanlar olup, 175-230 gr ve 20-30 gr arası ağırlıktaydılar. Verici olarak aynı cins ve nesilden 190-230 gr ağırlığında 100 günlükten yaşlı dişi sıçanlar kullanıldı. Nöronotrofik faktörleri elde etmek için kullanılan sıçanlar ise 10 günlükler. Deneyde tüm gruplarda toplam 205 sıçan kullanıldı. Sıçanların gruplara göre dağılımında biyoistatistikî örneklemeden yararlanıldı.

Bütün cerrahi girişimler steril şartlarda ve anestezide altında yapılmıştır.

a) Sıçanların Dopamin Sisteminin Denervasyonu:

Bu işleme girecek sıçanlar gerekli operasyon hazırlıklarından sonra desikatör içinde verilen çok hafif eter anestezisi altında steriotaksi aletine yerleştirildi, Freed, Perlov ve arkadaşlarının (13, 19) verdikleri koordinatlardan, Pellegrino (26), König ve Klippert (20) 'in atlasından da yararlanılarak intraventriküler enjeksiyon yeri saptandı. Yalnız kraniumu delemek şeklinde hazırlanan bir iğne ile steriotaksi aleti altında,

kraniuma delik açıldı. Daha sonra 0.5 mm'lik Hamilton enjektörü ile buzlu ortamda bekletilen 6-OHDA (Sigma Chemical Co., London) 250 µg/ul dozunda 1 dakika içinde gidecek şekilde intraventriküler olarak enjekte edildi. Enjeksiyon deliği ilacın geri gelmemesi için Bone-Wax ile kapatıldı.

b) Transplantasyon Kaviteilerinin Hazırlanması :

Birinci işlemde 10 gün sonra, greft ve kontrol gruplarını oluşturan hayvanlarda greftlerin yerleştirileceği kaviteilerin hazırlanmasına başlandı. Bu safhada Björklund ve Steveni'nin (3) teknikleri kullanıldı. Sıçanlar Phénobarbital Sodium (35 mg/kg. İP) ve Devalgin (30 mg/kg. İP) verilerek uyutuldu.

Steril şartlarda cilt ensizyonu yapıldıktan sonra el perforatörü ile sağ koronel sütürün önüne ve sagittal sütürün yanına 2 mm'lik bir delik açıldı. Dura ve altındaki damarlar koterize edildi. 1 mm çapındaki pasteur pipetinden yapılmış aspiratör ucu ile kortikal ve subkortikal dokular korpus striatumu kadar aspire edilerek 1.5x3 mm'lik kavite açıldı.

c) Yavru Sıçanlara Kavite Açılması:

10 günlük yavru sıçanlar diğerleri gibi ameliyata hazırlanıp sağ frontal bölgelerine 2 mm çapında bir delik açılarak aynı teknikle kortikal ve subkortikal dokular aspire edilerek 1.5x2 mm kavite açıldı. İçine aynı boyutlarda Spongostan (Ferrosan Co., Denmark) yerleştirildi,

d) Greftlerin Alınması ve Kaviteilerin Konması:

Greft koyma işlemi sadece greft grubuna olmak üzere toplam 42 sıçana uygulandı. Bu işlemde verici (donör) olarak aynı tür ve cinsiyette 190-230 gr ağırlığında sıçanlar kullanıldı. Greftlemede 4 parça medulla grefti kullanıldığından 2'şer adet verici sıçanların adrenal medullaları alındı. 21 sıçana ise adrenal medulla greftleri konulurken aynı zamanda 10 gün önce yavru sıçanlara kavite açılarak içine konan spongostan parçaları da transplantasyon sırasında alınarak greftlerin üzerine yerleştirildi.

Adrenalektomi Waynforth'un (32) tarif ettiği şekilde yapıldı. Adrenal medullam çıkarılıp hazırlanması Olson (24) ve Freed (12) 'in tarif ettikleri teknikte yapılmış transplantasyonda ise Das (7) ve arkadaşlarını tekniklerinden yararlanılmıştır. Greftler kavite açılmasından 10 gün sonra konmuştur.

e) Tirozin Hidroksilaz (TOH) Aktivitesinin Ölçümü:

Dekapite edilerek öldürülen sıçanların beyinleri hızla çıkarıldı. Greft dokuları ve korpus striatumları disseke edilerek homojenize edildikten sonra Tirozin Hidroksilaz aktivitesi Waynne ve arkadaşlarının (31) tanımladıkları yöntemin bir modifikasyonu ile ölçüldü. Bu yöntem katekolamin sentezinde L-(1-C) (12) Tirozin'in, Tirozin Hidroksilaz yardımıyla DOPA'ya, DOPA'nın da aromatik L aminoasit dekarboksilaz

Tablo — I

Grupların Sağ Korpus Striatumlarındaki Ortalama Tirozin Hidroksilaz Ölçümleri ve Değerlendirilmeleri

	Ortalama TOH Değerleri		Kıyaslanan Gruplar	Değerlendirme		
	n	nmol ¹⁴ Coz/doku/saat		t	Sd	p
N	7	4.04 ±0.19	N - K	3.07	10	p < 0.02
K	5	2.78 + 0.36				
G ₁	7	2.2 ±0.23	N - G ₁	6.03	12	p < 0.001
			K - G ₁	1.77	10	p < 0.50
G ₂	7	2.44±0.24	N - G ₂	5.16	12	p < 0.001
			K - G ₂	0.69	10	p (0.50
			G ₁ - G ₂	0.64	12	p (0.50

n: Olgu sayısı, N: Normal, K: Kontrol, G₁: Adrenal Medulla Greftli, G₂: Adrenal Medulla Greftli + Nöronotrofik Faktör

tarafından Dopamine çevrilmesi sırasında açığa çıkan radyoaktif C¹⁴'in sayılması esasına dayanmaktadır.

f) İstatistiki Değerlendirmeler:

Deneyin tüm istatistiki değerlendirmeleri Hewlett-Packard model 10 calculator 9810 Stac Pac aleti ile magnetik kartlar kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR

Greftli sıçanlar enzim tayinleri için dekapite edildiklerinde greftlerin ilk konuldukları hacmin 1/3 u kadar düşükleri gözlemlendi. Greftli sıçanların hepsinde greft tespit edildi. Ölçüm yapılacak materyal sayısı çok olduğundan örnekleme sayılar tablosundan yararlanılarak kontrol grubundan 5, normal gruptan 7, greftli gruptan 7 ve nöronotrofik faktör koyulan greftli gruptan 7 sıçanda bilateral TOH enzim ölçümleri yapıldı.

ölçümlerde kontrol sıçan grubunun sağ KS'daki TOH aktivitesinin normal sıçan grubunun % 65'ine kadar düşükü bulundu. Sol KS'de bu değer 69'du ve sağ tarafa çok yakın bir değer gösteriyordu. Greftli sıçan grubunda, yalnız adrenal medulla grefti ihtiva eden sıçanlar (G₁) ile adrenal medulla ile nöronotrofik faktör koyulan greftli sıçanların (G₂) TOH aktiviteleri arasında farklılık bulunmadı (sağ p<0.50, sol p<0.50).

Bütün grupların sağ ve sol KS'lanndaki kontrol grubu sıçanlar ile greftli sıçanların TOH aktiviteleri arasında da fark bulunmadı. Bu sonuçlar adrenal medulla greftlerinin Dopamin salgılamadığını ve nöronotrofik faktörlerin de etkili olmadığını göstermektedir. Bütün grupların sağ ve sol KS'lanndaki TOH aktivitesi ölçümleri ve değerlendirilmeleri Tablo-I ve H'de görülmektedir.

TARTIŞMA

Fötal ve yeni doğmuş sıçanlardan alınan beyin dokusu greftlerinin erişkin sıçanların beyinde yaşayabileceği değişik araştırmalarla gösterilmiştir (6, 21, 30). Ayrıca greftin immatür nöronlarının alıcı beyinde gelişmesine devam ettiği, yapısal olarak iyi organize olmuş dokulara dönüştüğü, alıcı beyni ile bağlantı kurduğu histolojik yöntemlerle saptanmış, fonksiyon yaptıkları da biyokimyasal tetkikler ve motor dönme testleri ile gösterilmiştir (3, 6,19, 30).

Intraserebral greft çalışmalarında fötal dokuların kullanılmasının gerekliliği, bu çeşit girişimlerin daha gelişmiş memelilerde denenmesini kısıtlamaktadır. Bununla beraber son yıllarda Steveni ve.Björklund doku kültürlerinden alınan fötal Substansia Nigra (SN) süspansiyonlarının intraserebral enjeksiyonlarından sonra fonksiyon yaptığını göstermişlerdir (2). Böylece bu yöntemle hem istenildiği anda, hem de istenildiği kadar enjeksiyon yaparak hücre nakli olasılığının da olduğu anlaşılmıştır.

Daha gelişmiş memelilerde ve insanlarda greftlerin kullanılabilir hale gelmesi için immünolojik reaksiyon vermeyen fetustan başka bir dopamin yapan dokunun kullanılması gerekmektedir. Bu doku adrenal medulla olabilir. Adrenal medulla hücrelerinin katekolamin sentezi ve depo ettikleri eskiden beri bilinmektedir (1). Pomerat ve arkadaşları ilk defa adrenal medullayı beyne transplante etmişler ve yaşadığını göstermişlerdir (28).

Adrenal medulla hücreleri yüksek bir elastikiyete sahip olup greft olarak SSS'ne konulduğunda yuvarlak olan şekilleri angüler hale döner ve bazı variköz uzantılar yapabilirler. Bu hücrelerin fibrillerin gelişerek nöronal karakter kazandıkları ileri sürülmüştür (12, 24). Bu yüzden SSS dopaminerjik sistemin deje-

Tablo - II

Grupların Sol Korpus Striatumlarındaki Ortalama Tirozin Hidroksilaz Ölçümleri ve Değerlendirilmeleri

	Ortalama TOH Değerleri		Kıyaslanan Gruplar	Değerlendirme		
	n	nmol "CO ₂ /doku/saat		t	Sd	P
N	7	4.01 ± 0.11	N - K	4.04	10	p < 0.02
K	5	2.62 ± 0.32				
G ₁	7	2.63 ± 0.21	N - G ₁ K - G ₁	5.75 0.03	12 10	p < 0.001 p < 0.50
G ₂	7	2.61 ± 0.40	N - G ₂ K - G ₂ G ₁ - G ₂	3.41 0.02 0.02	12 10 12	p < 0.02 p < 0.50 p < 0.50

n: Olgu sayısı, N: Normal, K: Kontrol, G₁: Adrenal Medulla Greftli, G₂: Adrenal Medulla Greftli + Nöronotrofik Faktör

neratif hastalıklarında eksik olan dopamin miktarının düzeltilmesinde otolog olarak kullanılacak bir doku olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca implantasyon amacı ile insanlarda tek taraflı çıkartılması da belirgin bir klinik bozukluk yapmaz.

Bazı çalışmalarda homojenat şeklinde intraven-triküler verilmiş adrenal medulla hücrelerinin % 60-80 oranında canlı kaldıkları gösterilmiştir (16, 27). Yalnız bu çalışmalarda hücre canlılığının gösterilmesi için ultrastrüktürel ve biyokimyasal çalışmalar yapılmamıştır. Ayrıca greftler genç sıçanlardan alınıp yaşlı sıçanlara konmuştur. Bu durum Parkinson hastalığının tedavisinde hastanın kendi adrenal medullasının kullanılması varsayımına ters düşmektedir.

Rakunt da, erişkin sıçanların adrenal medullasını homolog ve heterolog olarak greftlenmiş ve sıçanların motor fonksiyonlarında kısmi bir düzelmeye olmasına rağmen implantların biyokimyasal olarak anlamlı bir etki göstermediğini bulmuştur (9).

Diğer taraftan yaşlılarda beynin yaralanma bölgesinde nöronotrofik faktörlerin olmaması nedeni ile rejenerasyonun yetersiz olduğu ileri sürülmektedir (23). Nisto-Sampedro ve arkadaşları neonatal sıçanlardan elde edilen nöronotrofik faktörlerinin doku kültürlerinde nöronal aktiviteyi artırdığını göstermişlerdir (23). Biz çalışmamızda neonatal sıçanlardan elde ettiğimiz nöronotrofik faktörleri greftle birlikte kaviteye koyarak adrenal medulla greftlerinin fonksiyonu üzerine etkisini araştırdık.

Bu amaçla dopaminerjik nöronları 6-OHDA ile denerve edilen sıçanların KS'ları üzerine greftin beslenmesi için yeterli neovaskülarizasyon sağlamak amacıyla (30) kavite açıldıktan 19 gün sonra bir grup sıçana adrenal medulla, diğer bir gruba ise greftle birlikte neonatal sıçanlardan elde edilen nöronotrofik faktör ihtiva eden spongostan parçaları (23) kondu.

Greftlemeden 2 ay sonra deneye son verildiğinde greftlerin bütün sıçanlarda makroskopik olarak görünmesine rağmen ilk hacimlerinin 1/3'üne indikleri gözlenmiştir. Bu durum diğer araştırmacılar tarafından da gözlenmiştir (18, 29). Rakunt'un çalışmasında erişkin adrenal medulla greftlerinin 2 ay sonra % 32'sinin yaşadığı izlenmiştir (29).

Fötal greftlerin hedef dokularına uygun bağlan-tılar kurabilme nedenlerinin sinir liflerinin büyümesine ve hedefe ulaşmasına önderlik eden bir kimyasal maddeye bağlı olduğu ileri sürülmektedir (-1). Codman ve Lewis 3 günlük farelerin oksipital kortekslerine konulan embrional striatal dokunun kavite açılmasından 3-6 gün sonra yapıldığında tutma ve yaşamalarının arttığını göstermişlerdir (23). Bunun nedeninin yaralanmış dokudan salgılanan bir kimyasal faktörün etkisi ile olduğu ve bu maddenin kavite içinde toplanmasını birkaç gün aldığı ileri sürmüşlerdir. Nisto-Sampedro ve arkadaşları neonatal sıçanların oksipital kortekslerine kavite açmışlar ve içine Gelfoam koymuşlardır (23). Bu gelfoamları 3-6 gün sonra alarak bunlardan elde edilen ekstrelerin doku kültürlerinde nöronal aktiviteyi artırdığını in vitro olarak göstermişlerdir.

Biz çalışmamızda, neonatal sıçanlara kavite açarak içine spongostan koyduk. Bu spongostanları (Gelfoam) 4 gün sonra olarak erişkin adrenal medulla greftlerini koyarken kaviteye greftle birlikte yerleştirdik. Neonatal sıçanlardan elde ettiğimiz nöronotrofik faktörlerin erişkin adrenal medulla greftlerinin biyokimyasal fonksiyonu üzerine olan etkisini araştırdık.

Greftlemeden 2 ay sonra alınan TOH aktivitesi tayininde nöronotrofik faktörler birlikte adrenal medulla grefti konan grupta kontrol ve yalnız adrenal medulla grefti konan grup arasında anlamlı bir farklılık olmadığını bulduk. Bu da in vivo olarak nörono-

trofik faktörlerin erişkin adrenal medulla greftlerinin fonksiyonlarına etkisi olmadığını veya koyduğumuz miktarın yeterli olmadığını düşündürmektedir. Bu konuda bir yaym mevcut olmadığından etkili olabilecek nöronotrofik faktör miktarı da saptanmamıştır.

Araştırmamızın sonuçlarının negatif olmasına rağmen nöronotrofik faktörlerin in vivo olarak greftler üzerinde etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır (8). Olson ve arkadaşları ise nerve growth faktörü kullanarak daha sonraki yıllarda adrenal medulla greftlerinin etkilerini incelemiştir (25).

Bu faktörlerin daha iyi tanımlanması, beynin gelişmesinin daha iyi anlaşılabilmesine, zamanla SSS'nin nörodejeneratif hastalıklarının daha etkin tedavisine yol açabilecektir. Ayrıca SSS'ndeki bağlantıların nasıl teşekkül ettiğinin anlaşılması ile belki bir gün harabiyeti geri döndürmek de mümkün olabilecektir. Bu nöronotrofik faktörlerin elde edilmesi ve niteliğinin öğrenilmesi ile yaşlanmış beyinlerde kaybolan bağlantıların tekrar yerine konulabilmesi belki bugün için optimistik bir düşünce olmasına rağmen ileride mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Axelrod J: Catecholamine neurotransmitters, psychocative drugs and biological clocks. *J.Neurosurg.* 55:669-677, 1981.
2. Björklund A, RH Schmidt, U Steveni: Functional reinnervation of the neostriatum in the adult rat by use of intraparenchymal grafting of dissociated cell suspensions from the substantia nigra. *Cell Tissue Res.* 212:89-45, 1980.
3. Björklund A, U Steveni: Reconstruction of brain circuitries by neural transplants. *Trends in Neuroscience* 2:301-306, 1979.
4. Björklund A, UStenevi: Regeneration of monoaminergic and cholinergic neurons in the mammalian central nervous system. *Physiol.Rev.* 59:62-100, 1979.
5. Creese I, SD iversen: The role of forebrain dopamine systems in amphetamine induced stereotyped behaviour in the rat. *Psychopharmacologia (Berk)*, 39:345-357, 1974.
6. Das GD, BIT Hallas: Transplantation of brain tissue in the brain of adult rats. *Fixperientia* 34:1 304-1306, 1978.
7. Das GD, BH Hallas, KG Das: Transplantation of neural tissues in the brains of laboratory mammals: Technical details and comments. *Experientia* 35:143-153, 1979.
8. Doygun M, E Korfalı, İH Ulus: Nöronotrofik Faktörlerin Erişkin Sıçan Beynine İmpiante Edilen Adrenal Medulla Greftlerine Etkileri. XIX. Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Kong., Özet Bilgiler Kitabı. Hacettepe, p. 87-88, 1983.
9. Dumiett SB, A Björklund, U Stenevi, SD iversen: Grafts of emryonic substantia nigra reinner/ating the ventrolateral striatum ameliorate sensorimotor impairments and akinesia in rats with 6-OHDA lesions of the mgrostriatal pathway. *Brain Res.* 229:209-217, 1981.
10. Dunnett SB, A Björklund, U Stenevi, SD iversen: Behavioural recovery following transplantation of substantia nigra in rats subjected to 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. II. Bilateral lesions. *Brain Res.* 229: 457-470, 1981.
11. Evetts KD, NJ Uretsky, I.L İversen, SD iversen: Effects of 6-hydroxydopamine on CNS catecholamines, spontaneous motor activity and amphetamine induced hyperactivity in rats. *Nature* 225:961-962, 1970.
12. Freed Wj, MJ Morihisa, E Spoor, JB Halfer, I. Olson, A Seiger, JR Wyatt: Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behaviour. *Nature* 29:351-352, 1981.
13. Freed Wj, Kj Perlow, F Karcuin, A Seiger, L Olson, BJ Hoffer, RJ Wyatt: Restoration of dopaminergic function by grafting of fetal rat substantia nigra to the caudate nucleus: Long term behavioral, biochemical and histoehemical studies. *Ann.Neurol.* 8:510-519, 1980.
14. Fujimotor S, M Sasa, S Taksori: Dopaminergic inhibition from substantia nigra of caudate neurons activated by cortical stimulation, japan *J.Pharmacol.* 31:10.37-1042, 1981.
15. Höltner B, A Seiger, T Ljungbeig, I. Olson: Electrophysiological and Cytologien! studies of brain homografts in the anterior chamber of the eye: Maturation of cerebellar cortex in ocuio. *Brain Res.* 79:165-1 84, 1974.
16. iversen SD, PH Kelly: The use of 6-hydroxydopamine techniques for studying the pathways invoked in drug-induced motor behaviours. In: *Chemical Tools in Catecholamine Research. Vol. I, Jonsson G, T Malmforms, C Sacaks (eds.) North-Holland Publishing Co., Amsterdam, pp. 327, 333, 1975.*
17. Jeeger CB, RD Lund: Transplantation of emryonic occipital cortex to the brain of newborn rats. An autoradiographic study of transplant histogenesis, *Exp.Brain Res.* 40:265-279, 1980.
18. Kolata G: Grafts correct brain damage. *Science* 217: 342-344, 1982.
19. Korfalı E; Sıçanlarda Denerve Edilmiş Korpus Striatumun Fötal Dopaminergic Nöron Greftleriyle Reinnerasyonu. Bursa üniv. Tıp Fak. Doçentlik Tezi, 1982.
20. König JFR, RA Klippel: The Rat Brain, A. Stereotaxic Atlas of the Forebrain and Lower Parts of the Brain Stem. Robert E. Krieger Publishing Co., Inc., New York, 1967.
21. Lee Gross Clark WE: Neuronal differentiation in implanted foetal cortical tissue. *JJSieur.Psy.* 3:263-272, 1.940.

22. Le Gross Clark WE: The problem of neuronal regeneration in the central nervous system I. Influence of spinal ganglia and nerve fragments grafted in the brain. *J.Anat.* 77:20-47, 1942.
23. Nieto-Sarnpedo M, R Ellen, C Lewis, W Cotman: Brain injury causes a time-dependent increase in neurotrophic activity at the lesion site. *Science* 217:860-861, 1982.
24. Olson L, A Seiger, R Freedman, B Hoffer: Chromaffine cells can innervate brain tissue: Evidence from intra-ocular double grafts. *Exp.Neurol.* 70:414-426, 1980.
25. Olson L, I Stromberg, Herrera, M Marschitz: Adrenal medulla tissue grafted to the dopamine denervated rat striatum: Histochemical and functional effects of addition of nerve growth factor. In: *Neuronal Grafting in the Mammalian CNS.* Bjorklund A, U Stenevi, Elsevier (eds.), Amsterdam, pp. 508-518, 1985.
26. Pellegrino LJ, AJ Cushman: *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain.* Meredith Publishing Comp., New York, 1967.
27. Perlow MJ; K Kumakura, A Guidotti: Prolonged survival of bovine adrenal chromaffin cells in rat cerebral ventricles. *Proc.Natl.Acad.Sci.* 77:5278-5281, 1980.
28. Pomerat CM, CG Breckenriggs, L Gordon: Homoioplastic adrenal grafts to the cerebral cortex of the rat. *Endocrinol.* 34:60-68, 1944.
29. Rakunt C, E Korfah: Denerve Edilmiş Sıçan Beyni Dopaminerjik Sistemine Transplante Edilen Erişkin Adrenal Medulla Greftlerinin İncelenmesi. XIX. Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Kongresi, özet Bildiri Kitabı, p. 89-90, 1983.
30. Stenevi U, A Björklund, NA Svendgeard: Transplantation of central and peripheral monoamine neurons to the adult rat brain: Techniques and conditions for survival. *Brain Res.* 114:1-20, 1976.
31. Wymire JC, R Bjur, N Weiner: Assay of tyrosine hydroxylase by coupled decarboxylation of dopa formed from (14c) L-tyrosine. *Analyt.Bioc.* 43:588-600, 1971.
32. Wynforth HB: *Animal Operative Techniques.* Raven Press, New York, p. 236, 1965.