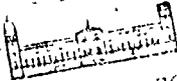


**ESTUDIO DEL FUNCIONALISMO DOPAMINÉRGICO EN EL
CEREBRO DE RATA TRAS LA ADMINISTRACION DE
FARMACOS ANTAGONISTAS DE CANALES DE CALCIO.**



UNIVERSITAT DE BARCELONA
Biblioteca
Àrea de Ciències de la Salut
CAMPUS DE BELLESGUARD

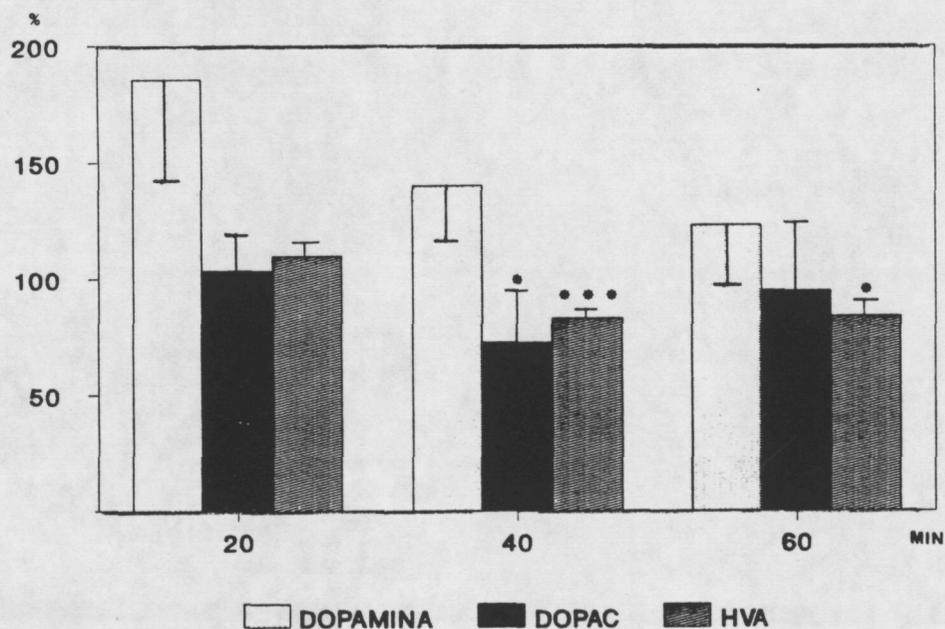


Fig. 13. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos en respuesta a la despolarización con potasio en ratas pretratadas con vehículo.

Los animales fueron tratados oralmente con vehículo durante 18 días. Una vez recogidas las primeras muestras de diálisis se procedió a la administración intracerebral de potasio.

Los datos se expresan como % (media±SEM, n=17 animales) de los valores correspondientes a las cuatro primeras muestras recogidas en cada rata. Se comparó cada rata con respecto a sí misma. Se utilizó una U de Mann-Whitney. *p<0.05 ***p<0.001

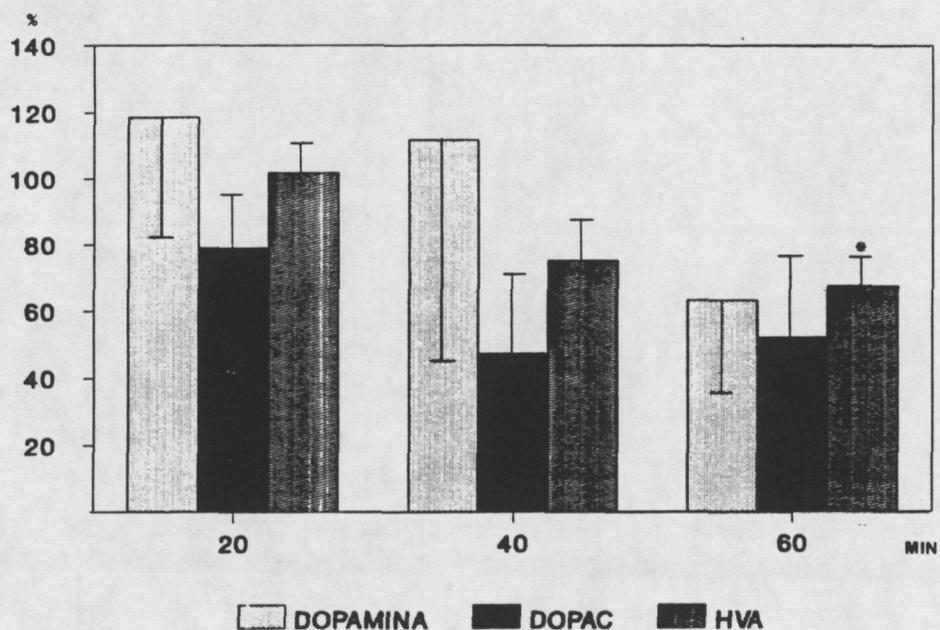


Fig. 14. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos en respuesta a la despolarización con potasio en ratas pretratadas con haloperidol.

Los animales fueron tratados oralmente con haloperidol durante 18 días. Una vez recogidas las primeras muestras de diálisis se procedió a la administración intracerebral de potasio.

Los datos se expresan como % (media \pm SEM, n=6 animales) de los valores correspondientes a las cuatro primeras muestras recogidas en cada rata. Se utilizó una U de Mann-Whitney.

Se compara cada rata con respecto a sí misma (valores mostrados en la gráfica, $*p < 0.05$), y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). No hubo diferencias significativas con respecto al grupo control.

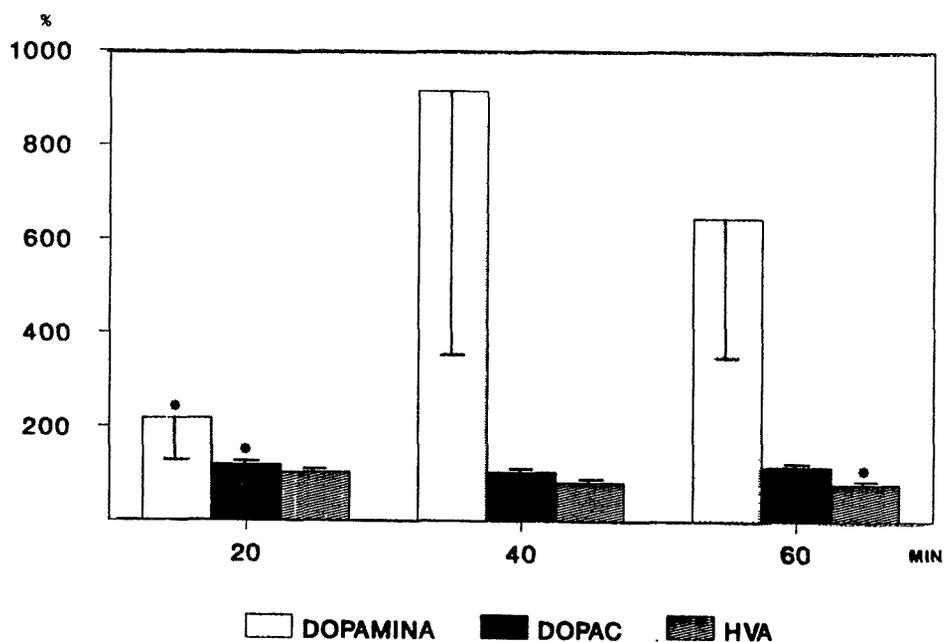


Fig. 15. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos en respuesta al estímulo con potasio en ratas pretratadas con cinaricina.

Los animales fueron tratados con cinaricina oralmente durante 18 días. Una vez recogidas las primeras muestras de diálisis se procedió a la administración intracerebral de potasio.

Los datos se expresan como % (media \pm SEM, n=6 animales) de los valores correspondientes a las cuatro primeras muestras basales recogidas en cada rata. Se compara cada rata con respecto a sí misma (valores mostrados en la gráfica, * $p < 0.05$), y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). Los valores de DA estuvieron incrementados significativamente ($p < 0.05$) con respecto al grupo control a los 60 min de la administración del potasio. Se utilizó una U de Mann-Whitney.

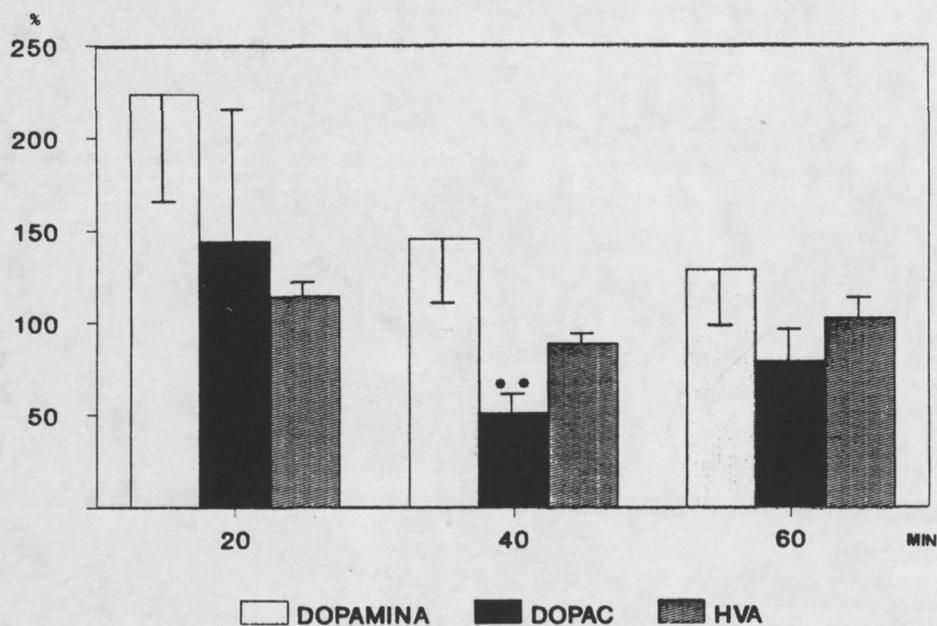


Fig. 16. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos en respuesta a la despolarización con potasio en ratas pretratadas con flunaricina.

Los animales fueron tratados oralmente con flunaricina durante 18 días. Una vez recogidas las primeras muestras de diálisis se procedió a la administración intracerebral de potasio.

Los datos se expresan como % (media±SEM, n=8 animales) de los valores correspondientes a las cuatro primeras muestras recogidas en cada rata.

Se compara cada rata con respecto a sí misma (valores mostrados en la gráfica, **p<0.01), y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). No hubo diferencias significativas con respecto al grupo control. Se utilizó una U de Mann-Whitney.

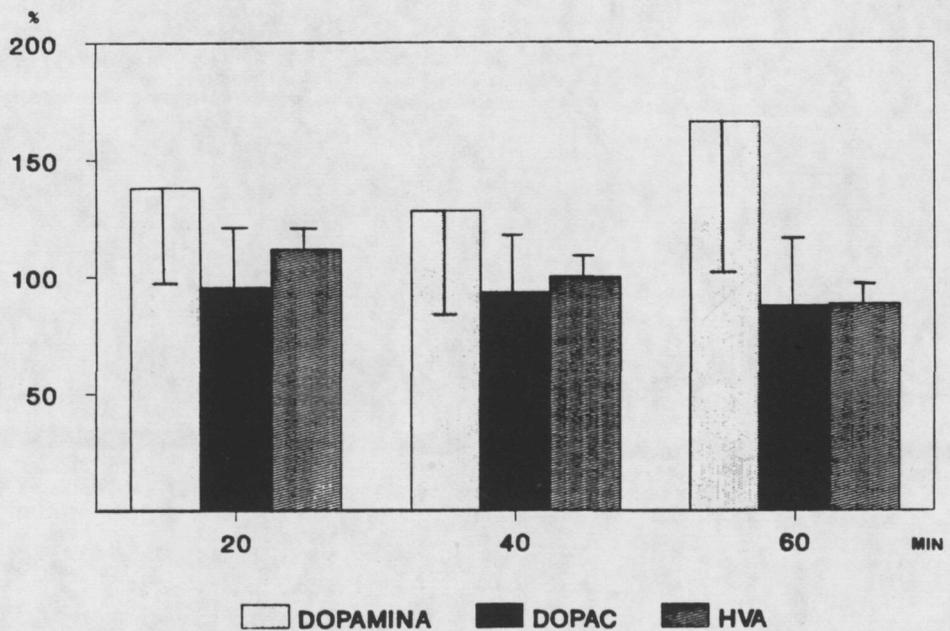


Fig. 17. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos en respuesta a la despolarización con potasio en ratas pretratadas con verapamil.

Los animales fueron tratados oralmente con verapamil durante 18 días. Una vez recogidas las primeras muestras de diálisis se procedió a la administración intracerebral de potasio.

Los datos se expresan como % (media \pm SEM, n=7 animales) de los valores correspondientes a las cuatro primeras muestras recogidas en cada rata.

Se compara cada rata con respecto a sí misma (valores mostrados en la gráfica) y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). No hubo diferencias significativas ni con respecto a sí mismas ni con respecto al grupo control. Se utilizó una U de Mann-Whitney.

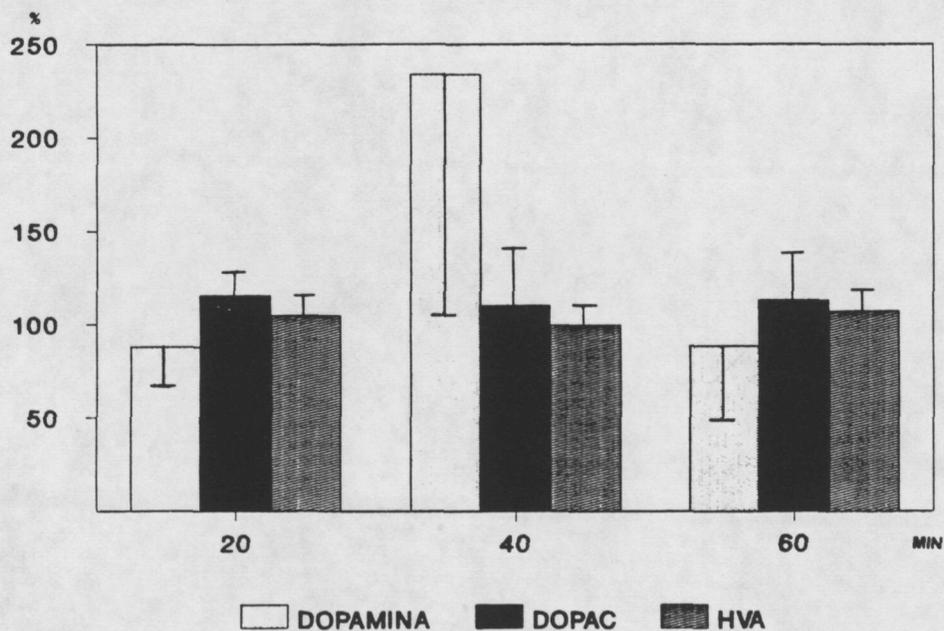


Fig. 18. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos en respuesta a la despolarización con potasio en ratas pretratadas con nicardipina.

Los animales fueron tratados oralmente con nicardipina durante 18 días. Una vez recogidas las primeras muestras de diálisis se procedió a la administración intracerebral de potasio.

Los datos se expresan como % (media±SEM, n=6 animales) de los valores correspondientes a las cuatro primeras muestras recogidas en cada rata.

Se compara cada rata con respecto a sí misma (valores mostrados en la gráfica) y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). No hubo diferencias significativas ni con respecto a sí mismas ni con respecto al grupo control. Se utilizó una U de Mann-Whitney.

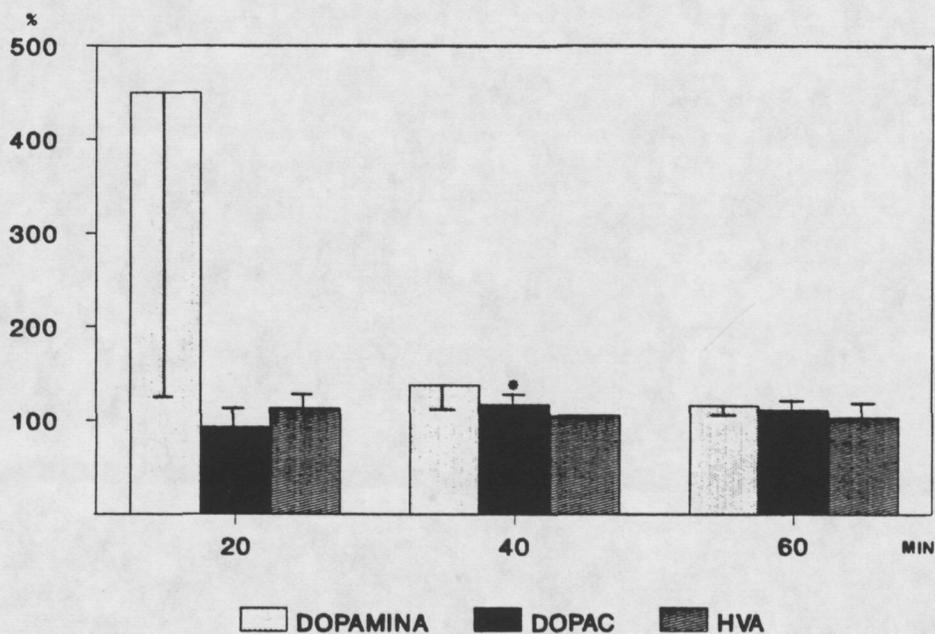


Fig. 19. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos en respuesta a la despolarización con potasio en ratas pretratadas con nifedipina.

Los animales fueron tratados oralmente con nifedipina durante 18 días. Una vez recogidas las primeras muestras de diálisis se procedió a la administración intracerebral de potasio.

Los datos se expresan como % (media±SEM, n=7 animales) de los valores correspondientes a las cuatro primeras muestras recogidas en cada rata.

Se compara cada rata con respecto a sí misma (valores mostrados en la gráfica, * $p < 0.05$), y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). Los valores de DOPAC a los 40 min y de HVA a los 60 min estuvieron incrementados significativamente ($p < 0.01$ y $p < 0.05$, respectivamente) con respecto al grupo control. Se utilizó una U de Mann-Whitney.

3.2.2.4. Efecto de una administración de haloperidol sobre los niveles extracelulares de dopamina y sus metabolitos en estriado de rata tras el tratamiento crónico con haloperidol o con dosis medias de fármacos antagonistas de los canales de calcio.

Vehículo.

Las ratas tratadas con vehículo respondieron a la administración de haloperidol con un incremento de los niveles extracelulares de DA de alrededor de un 130% con una significatividad ($p= 0.01$) y ($p< 0.001$) que se observó ya desde los 20 minutos del comienzo del estímulo. (Fig. 20, A)

También se produjo un incremento que superó el 175% en los niveles de ambos metabolitos, muy significativo ($p\leq 0.001$), ya desde los 40 minutos de la administración del fármaco. (Fig. 20, B y C)

Butirofenonas.

Los animales a los que se había administrado haloperidol de un modo continuado no mostraron cambios significativos en los valores de DA extracelular ante un estímulo sobreañadido del mismo ni con respecto a sí mismos ni con respecto a las ratas control. (Fig. 20, A)

Con respecto a los metabolitos hubo un incremento que no superó el 68% en ambos. La significación fue ($p< 0.05$) y solamente se alcanzó en el periodo comprendido entre 80-120 minutos después de la inyección del haloperidol en el caso del DOPAC y a partir de los 80 minutos en el caso del HVA. Los cambios observados en ambos metabolitos fueron significativamente inferiores ($p\leq 0.01$) a los de las ratas control a partir de los

80 minutos. (Fig. 20, B y C)

Difenilalquilaminas.

Tras el tratamiento repetido con cinaricina, la administración de haloperidol produjo un incremento de hasta un 170% en los niveles extracelulares de DA que fueron significativos ($p < 0.05$) a partir de los 80 minutos de la inyección. Los cambios no fueron significativos con respecto a las ratas control. (Fig. 21, A)

Los niveles de DA en el espacio extracelular de las ratas pretratadas con flunaricina no respondieron a la administración de haloperidol y fueron significativamente inferiores ($p \leq 0.05$) en algunos tiempos con respecto a los de las ratas control. (Fig. 22, A)

Las ratas pretratadas con cinaricina respondieron a un estímulo con haloperidol mediante un incremento de hasta un 100% en los niveles de DOPAC y de un 170% en los niveles de HVA. La significatividad fue ($p < 0.05$) y se alcanzó a partir de los 80 minutos de la administración del fármaco. Los cambios en los niveles de DOPAC fueron significativamente menores ($p = 0.01$) que los de las ratas control. (Fig. 21, B y C)

Tras el tratamiento previo con flunaricina, la inyección de haloperidol dió lugar a un incremento de hasta el 445% en los niveles de DOPAC y de un 90% en los niveles de HVA con una significatividad $p < 0.01$ que se alcanzó a partir de los 80 minutos en el caso del DOPAC y desde los 20 minutos en el caso del HVA. Los cambios observados en los niveles de HVA fueron significativamente inferiores ($p < 0.05$) y ($p \leq 0.01$) a los de las ratas control. (Fig. 22, B y C)

Fenilalquilaminas.

Después de la administración continuada de verapamil se produjo un incremento en los valores extracelulares de DA de hasta un 220% por el estímulo con haloperidol, que fué significativo ($p < 0.05$) a partir de los 140 minutos de la inyección. Los cambios no fueron significativos con respecto a las ratas control. (Fig. 23, A)

Hubo un incremento en los niveles de DOPAC de hasta un 430% y en los de HVA de un 90% con una significatividad $p < 0.05$ que se alcanzó a partir de los 140 minutos de la inyección del fármaco en el caso del DOPAC y desde los 20 minutos en el del HVA. Los cambios observados en el HVA fueron significativamente menores ($p = 0.05$) que los de las ratas control en el espacio comprendido entre 80 y 120 minutos de la inyección. (Fig. 23, B y C)

1,4 Dihidropiridinas.

No hubo cambios significativos en los niveles de DA extracelular en las ratas pretratadas con dihidropiridinas tras el estímulo con haloperidol ni con respecto a ellas mismas ni con respecto a los animales control. (Figs. 24 y 25, A)

En los animales a los que se había administrado previamente nicardipina no se observaron cambios significativos en los niveles de ambos metabolitos tras el estímulo con haloperidol, pero los valores encontrados fueron menores significativamente ($p < 0.05$) que los de las ratas control a partir de los 80 minutos de la inyección. (Fig. 24, B y C)

Las ratas pretratadas con nifedipina respondieron a una inyección de haloperidol con un incremento de los niveles de

DOPAC de hasta un 100% y de HVA de hasta un 80%, con una significatividad ($p < 0.05$). Al finalizar la diálisis se observó una tendencia a recuperar los valores previos al estímulo. Los cambios observados en el HVA fueron significativamente inferiores ($p < 0.05$) y ($p < 0.01$) que los de las ratas control. (Fig. 25, B y C)

Fig. 20. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos tras una administración de haloperidol en ratas pretratadas con vehículo o con haloperidol.

Los animales fueron tratados oralmente con vehículo o con haloperidol durante 18 días, antes de la administración sobreañadida del haloperidol.

Los datos se expresan como % (media±SEM n,nº de animales) de los valores correspondientes a las muestras de diálisis obtenidas durante el cambio del líquido de perfusión realizado tras la administración del potasio. Se compara cada rata con respecto a sí misma y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). Se utilizó una U de Mann-Whitney.

A:niveles de DA. El grupo de ratas tratado con vehículo (n=17) respondió al estímulo con un incremento muy significativo $p<0.01$ - $p<0.001$. En el grupo de las ratas pretratadas con haloperidol (n=6) no hubo cambios significativos ni con respecto a sí mismas ni con respecto a las ratas control.

B:niveles de DOPAC. El grupo de ratas tratado con vehículo respondió al estímulo con un incremento muy significativo $p<0.001$. En las ratas pretratadas con haloperidol se observó un incremento significativo $p<0.05$ en el período comprendido entre los 80 y 120 min después de la administración del haloperidol, con respecto a las mismas ratas. Dicho incremento resultó significativamente menor ($p<0.01$) que el de las ratas control.

C:niveles de HVA. El grupo de ratas tratado con vehículo respondió al estímulo con un incremento muy significativo $p<0.001$. En las ratas pretratadas con haloperidol se observó un incremento significativo $p<0.05$ a partir de los 80 min después de la administración del haloperidol. Dicho incremento resultó significativamente menor ($p<0.01$) que el de las ratas control.

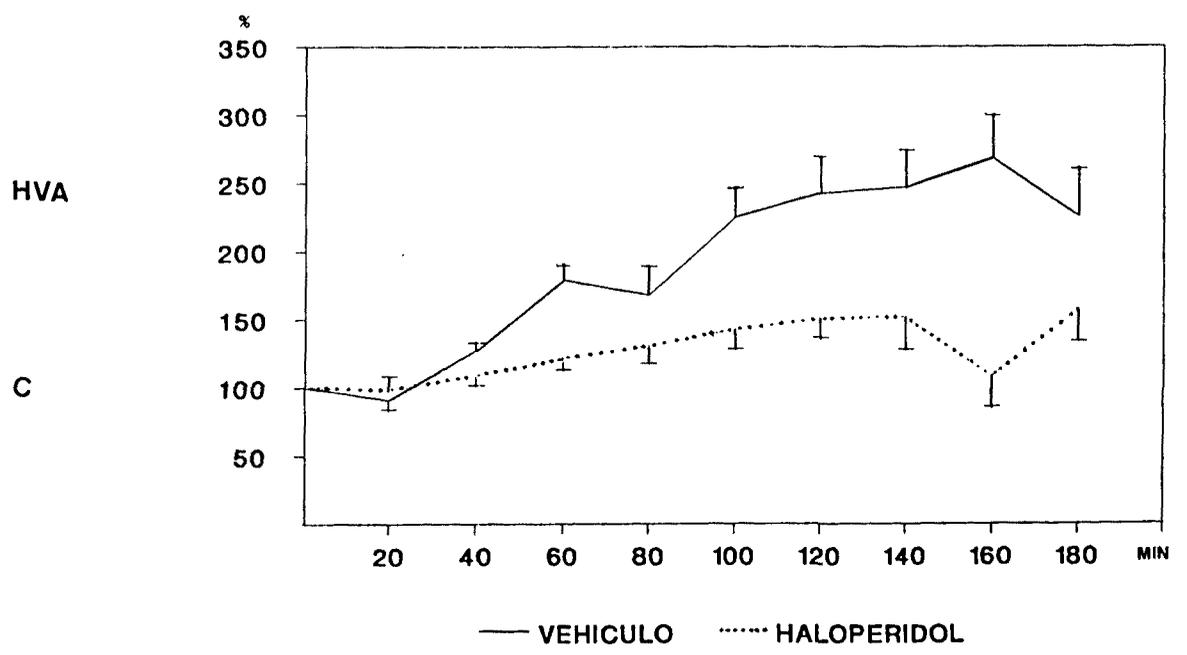
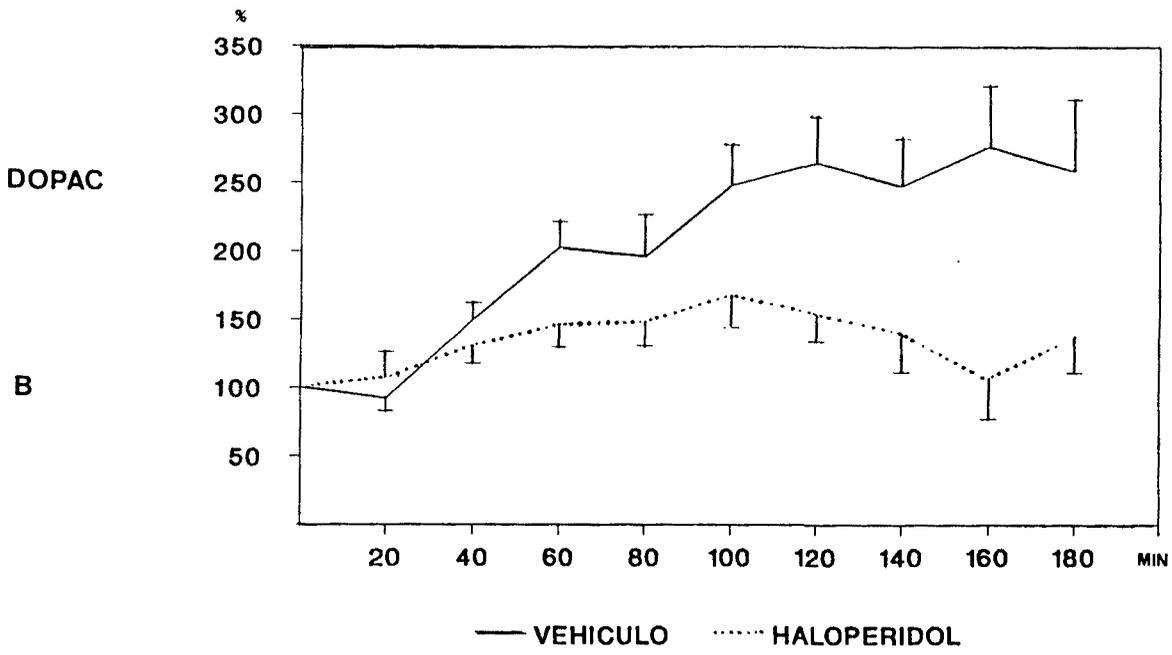
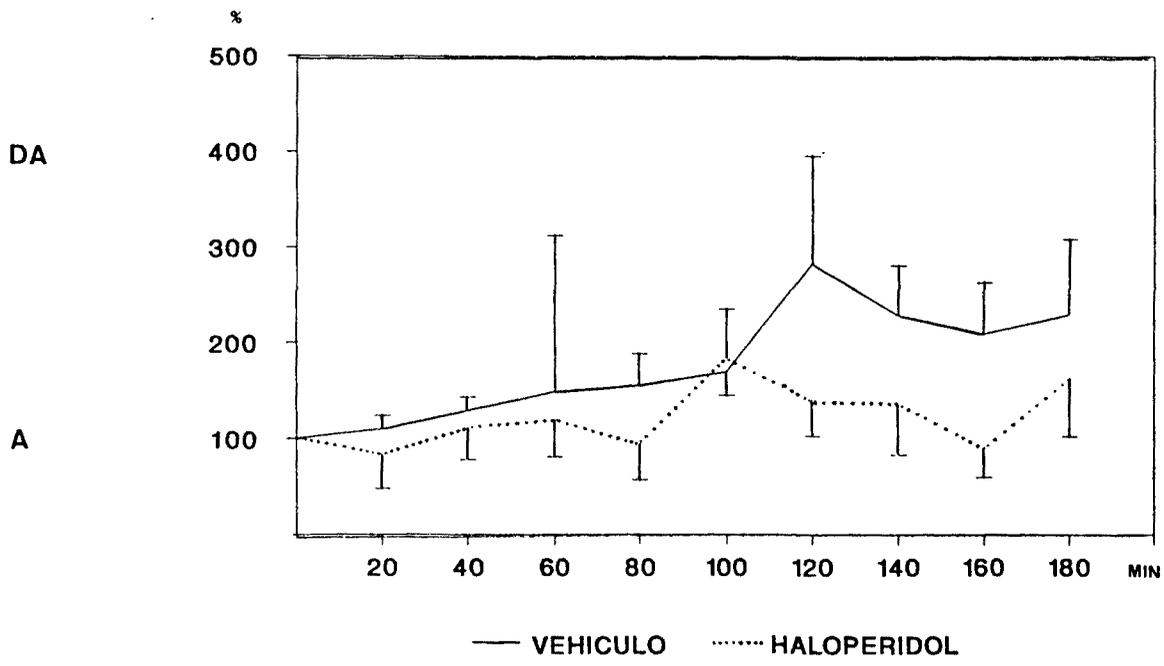


Fig. 21. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos tras una administración de haloperidol en ratas pretratadas con cinaricina.

Los animales fueron tratados oralmente con cinaricina durante 18 días antes de la administración sobreañadida del haloperidol.

Los datos se expresan como % (media±SEM, n=6 animales) de los valores correspondientes a las muestras obtenidas durante el cambio de líquido de perfusión realizado tras la administración de potasio.

Se compara cada rata con respecto a sí misma y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). Se utilizó una U de Mann-Whitney.

A: niveles de DA. Se observó un incremento significativo $p \leq 0.05$ a partir de los 80 min después de la administración del haloperidol. No hubo cambios significativos con respecto a las ratas control.

B: niveles de DOPAC. Se observó un incremento significativo $p \leq 0.05$ a partir de los 80 min después de la administración del haloperidol. Dicho incremento resultó significativamente menor ($p \leq 0.01$) que el de las ratas control.

C: niveles de HVA. Se observó un incremento significativo $p \leq 0.05$ a partir de los 80 min después de la administración del haloperidol. No hubo cambios significativos con respecto a las ratas control.

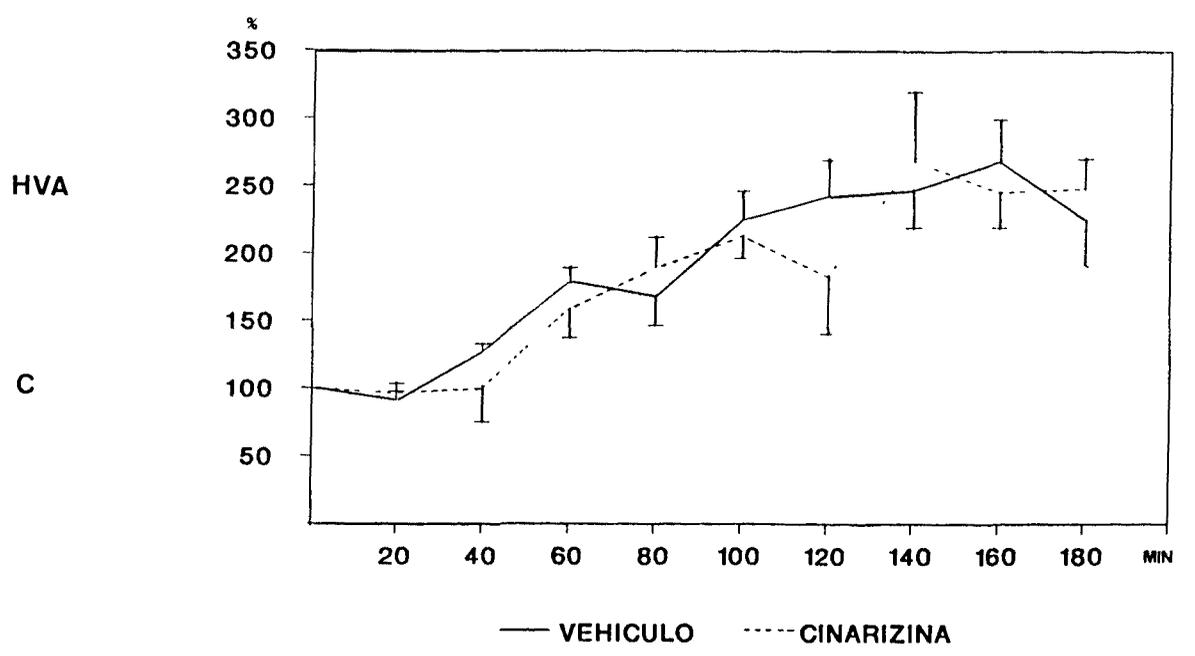
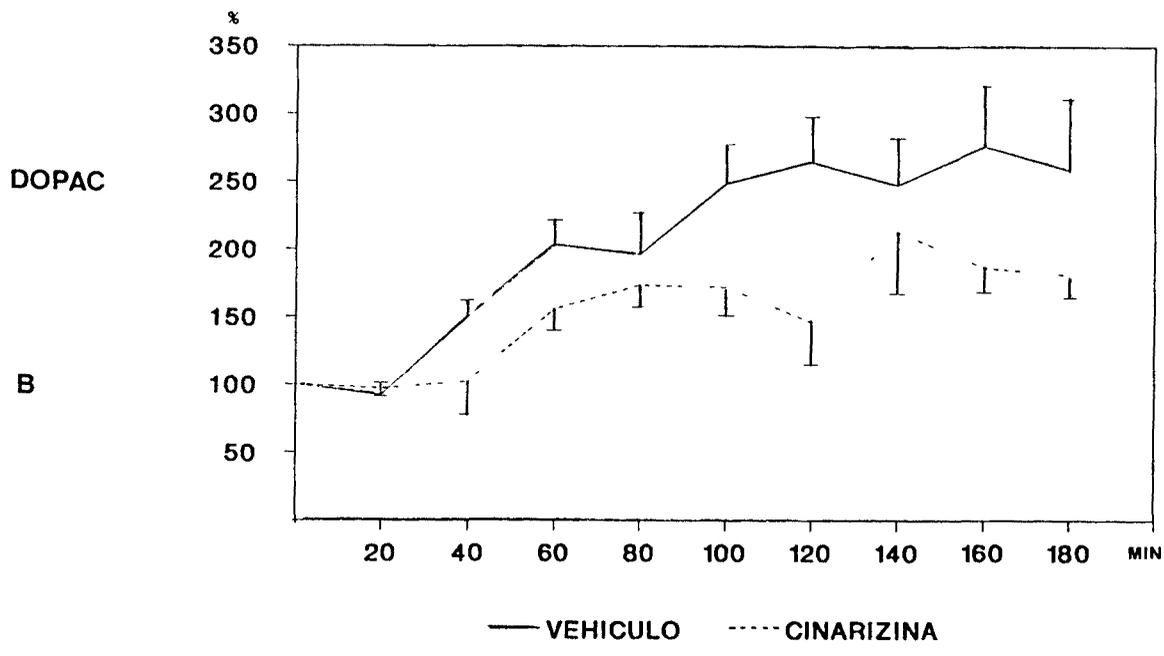
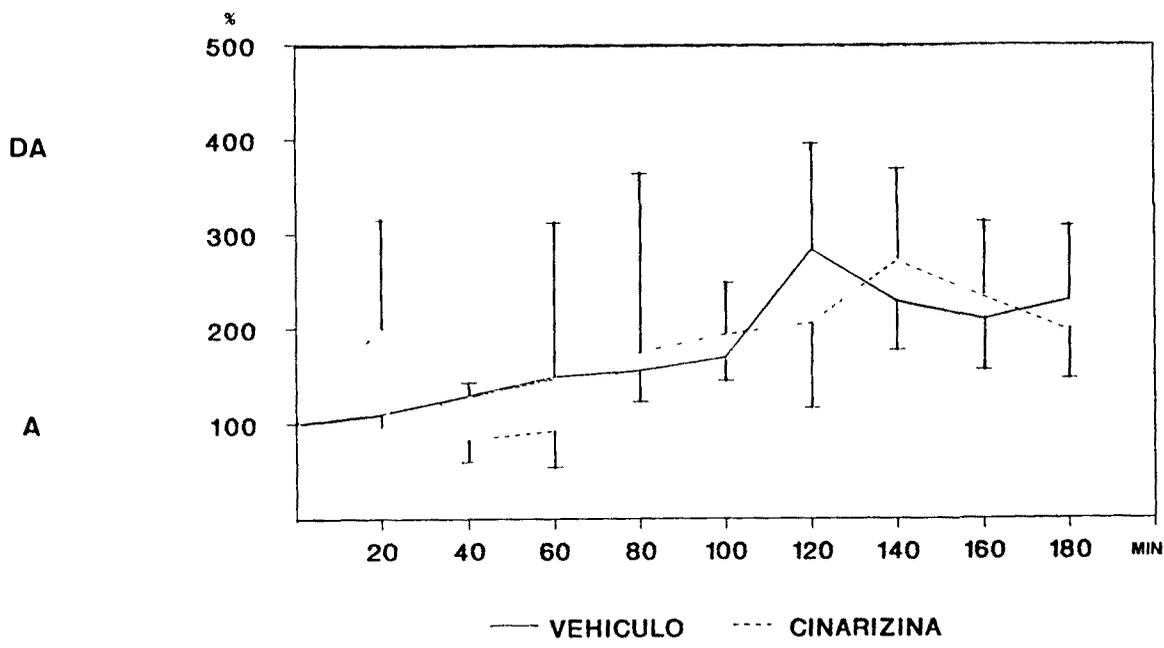


Fig. 22. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos tras una administración de haloperidol en ratas pretratadas con flunaricina.

Los animales fueron tratados oralmente con flunaricina durante 18 días antes de la administración sobreañadida del haloperidol.

Los datos se expresan como % (media±SEM, n=8 animales) de los valores correspondientes a las muestras obtenidas durante el cambio del líquido de perfusión realizado tras la administración de potasio.

Se compara cada rata con respecto a sí misma y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). Se utilizó una U de Mann-Whitney.

A:niveles de DA. No se observaron cambios significativos en las ratas tratadas con respecto a sí mismas. Los valores encontrados resultaron significativamente inferiores $p \leq 0.05$ a los de las ratas control.

B:niveles de DOPAC. Se observó un incremento significativo $p \leq 0.01$ a partir de los 80 min después de la administración del haloperidol. No hubo cambios significativos con respecto a las ratas control.

C:niveles de HVA. Se observó un incremento significativo $p \leq 0.01$ desde los 20 min después de la administración del haloperidol. Dicho incremento resultó significativamente menor $p \leq 0.01$ que el de las ratas control.

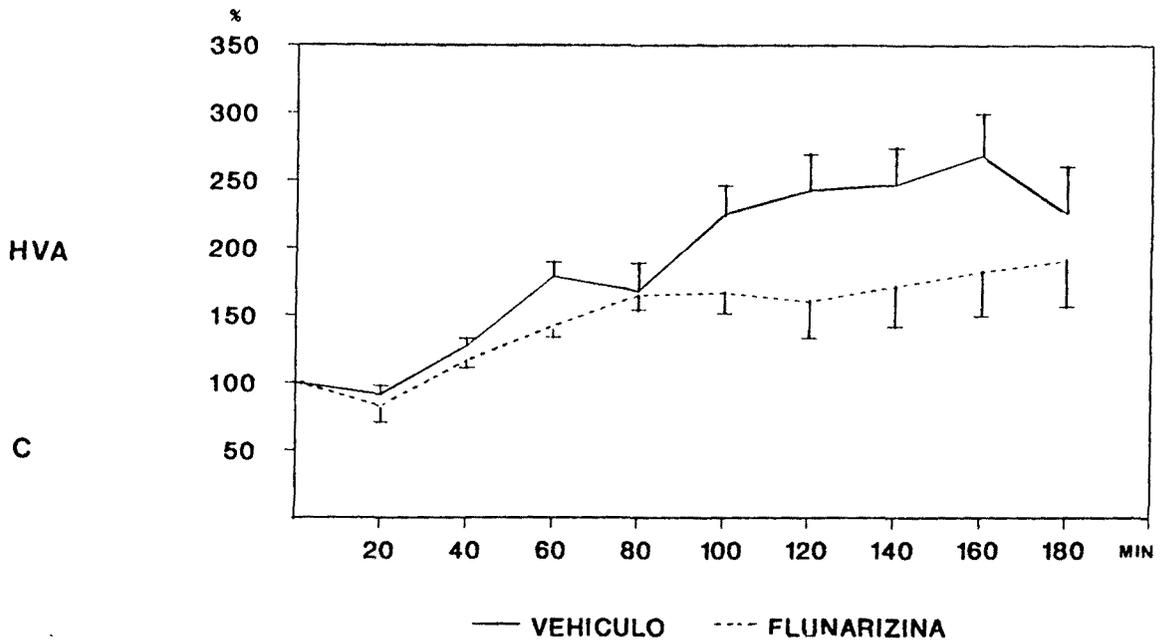
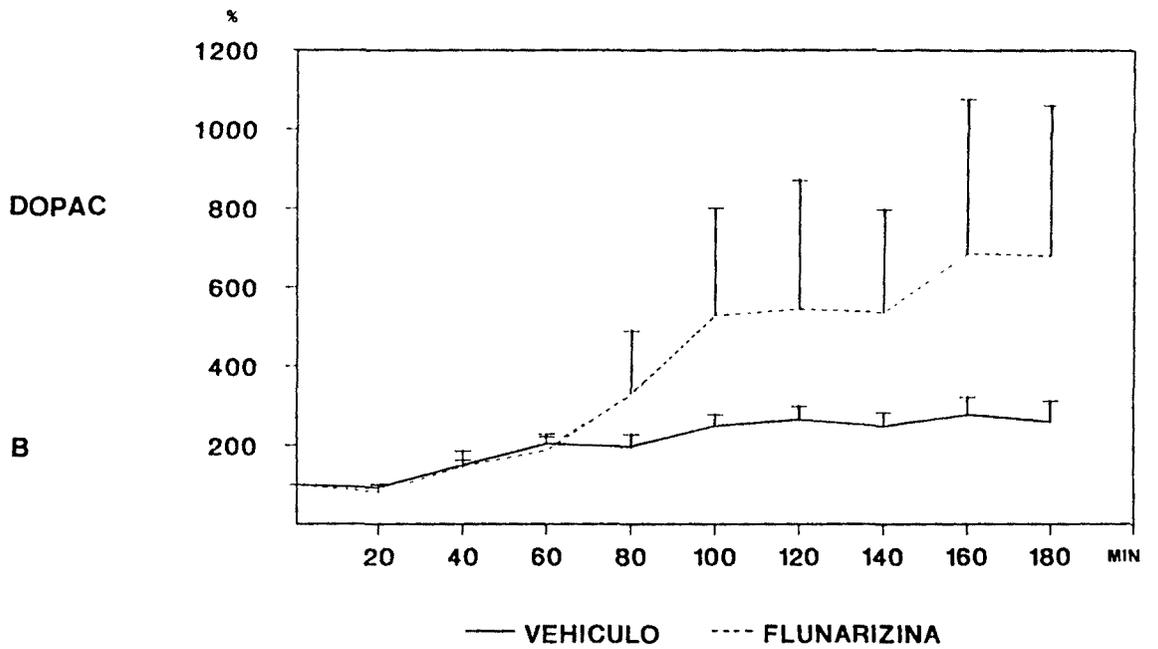
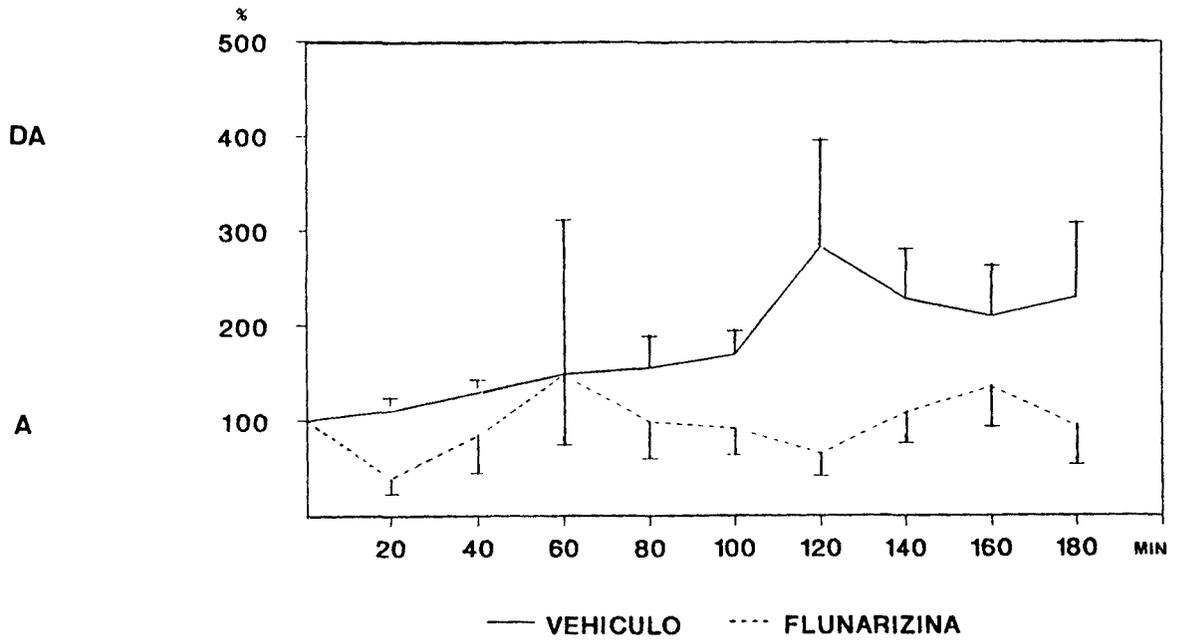


Fig. 23. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos tras una administración de haloperidol en ratas pretratadas con verapamil.

Los animales fueron tratados oralmente con verapamil durante 18 días antes de la administración sobreañadida del haloperidol.

Los datos se expresan como % (media±SEM, n=7 animales) de los valores correspondientes a las muestras obtenidas durante el cambio del líquido de perfusión realizado tras la administración de potasio.

Se compara cada rata con respecto a sí misma y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). Se utilizó una U de Mann-Whitney.

A:niveles de DA. Se observó un incremento significativo $p < 0.05$ a partir de los 140 min después de la administración del haloperidol. No hubo cambios significativos con respecto a las ratas control.

B:niveles de DOPAC. Se observó un incremento significativo $p < 0.05$ a partir de los 140 min de la administración del haloperidol. No hubo cambios significativos con respecto a las ratas control.

C:niveles de HVA. Se observó un incremento significativo $p < 0.05$ desde los 20 min de la administración del haloperidol. Dicho incremento resultó significativamente menor $p < 0.05$ que el de las ratas control.

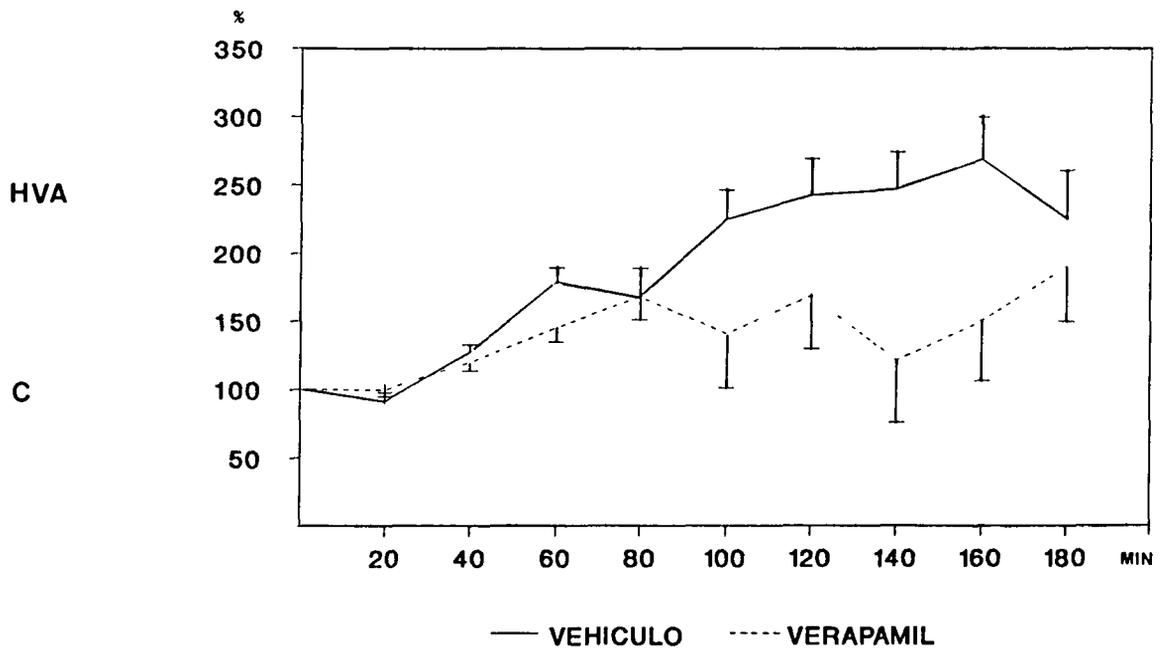
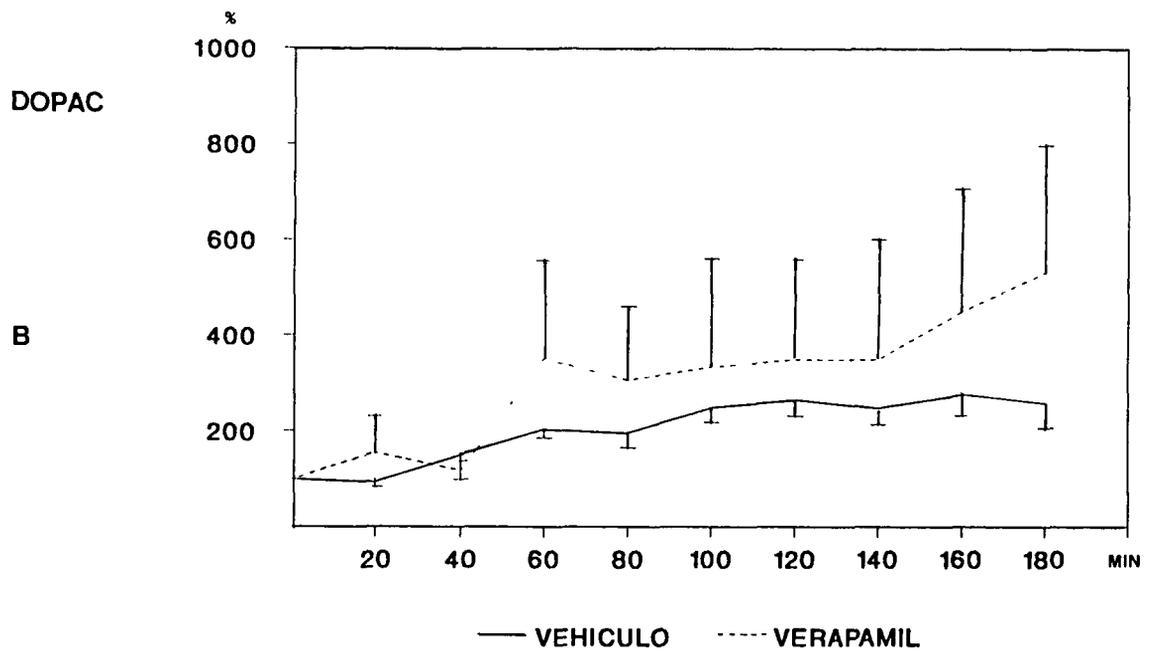
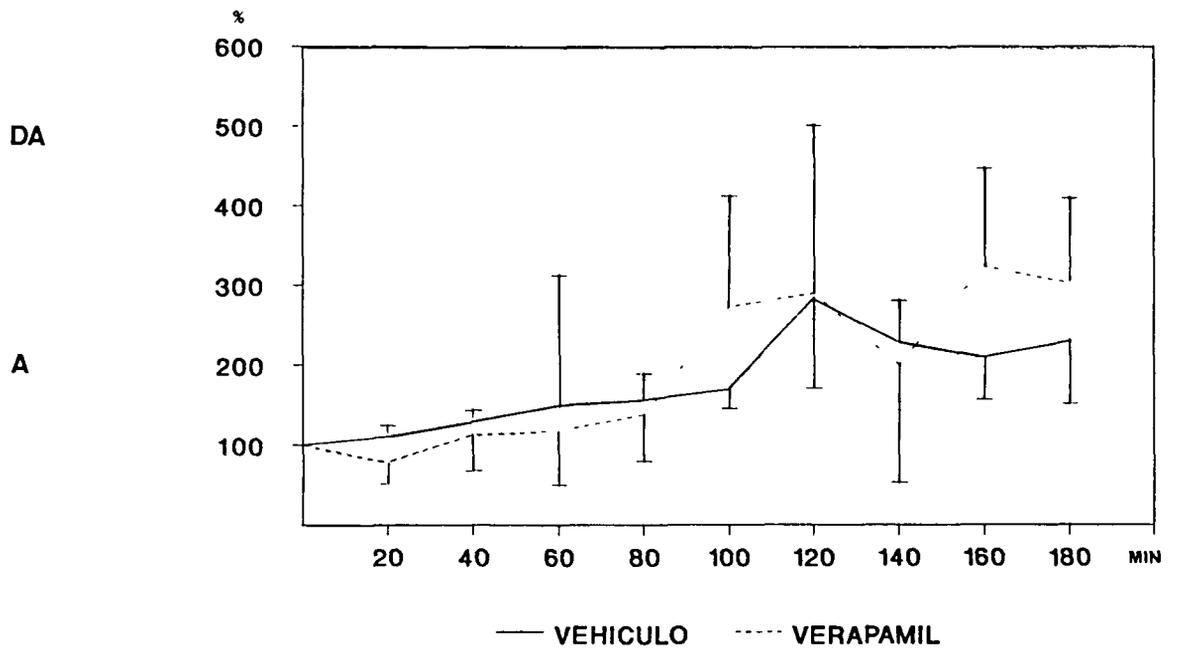


Fig. 24. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos tras una administración de haloperidol en ratas pretratadas con nicardipina.

Los animales se trataron oralmente con nicardipina durante 18 días antes de la administración sobreañadida del haloperidol.

Los datos se expresan como % (media \pm SEM, n=6 animales) de los valores correspondientes a las muestras obtenidas durante el cambio del líquido de perfusión realizado tras la administración de potasio.

Se compara cada rata con respecto a sí misma y cada grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). Se utilizó una U de Mann-Whitney.

A:niveles de DA. No hubo cambios significativos en las ratas ni con respecto a sí mismas ni con respecto a las ratas control.

B:niveles de DOPAC. No hubo cambios significativos en las ratas con respecto a sí mismas. Los valores resultaron significativamente menores $p < 0.05$ que los de las ratas control.

C:niveles de HVA. No hubo cambios significativos en las ratas con respecto a sí mismas. Los valores resultaron significativamente menores $p < 0.05$ que los de las ratas control.

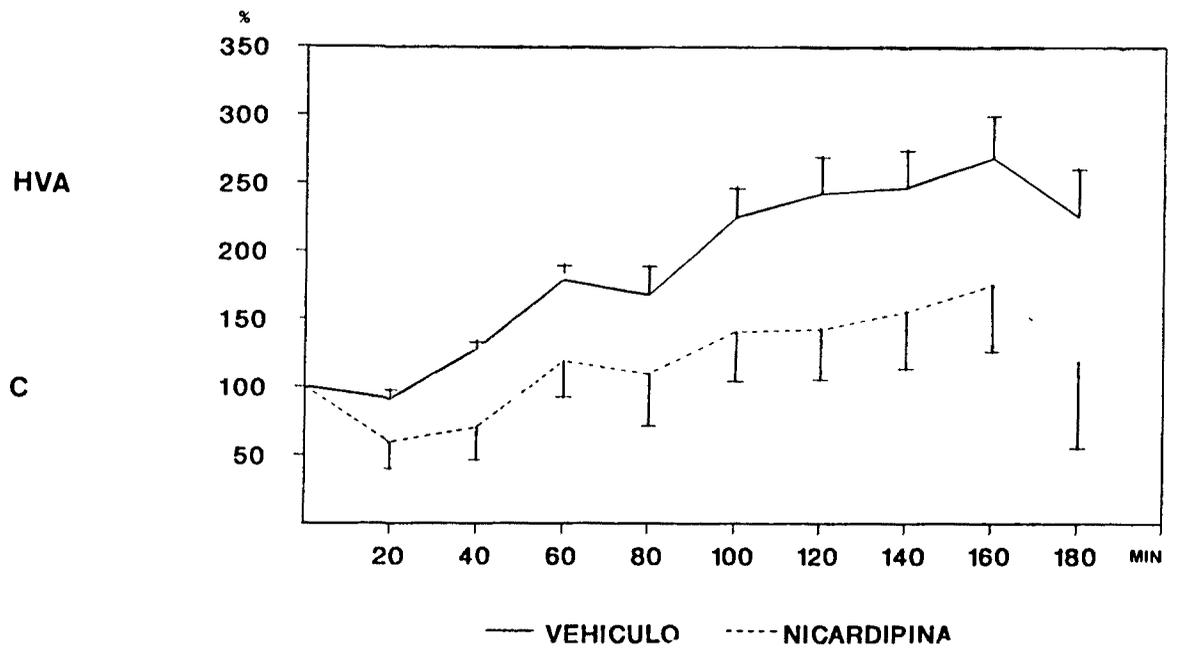
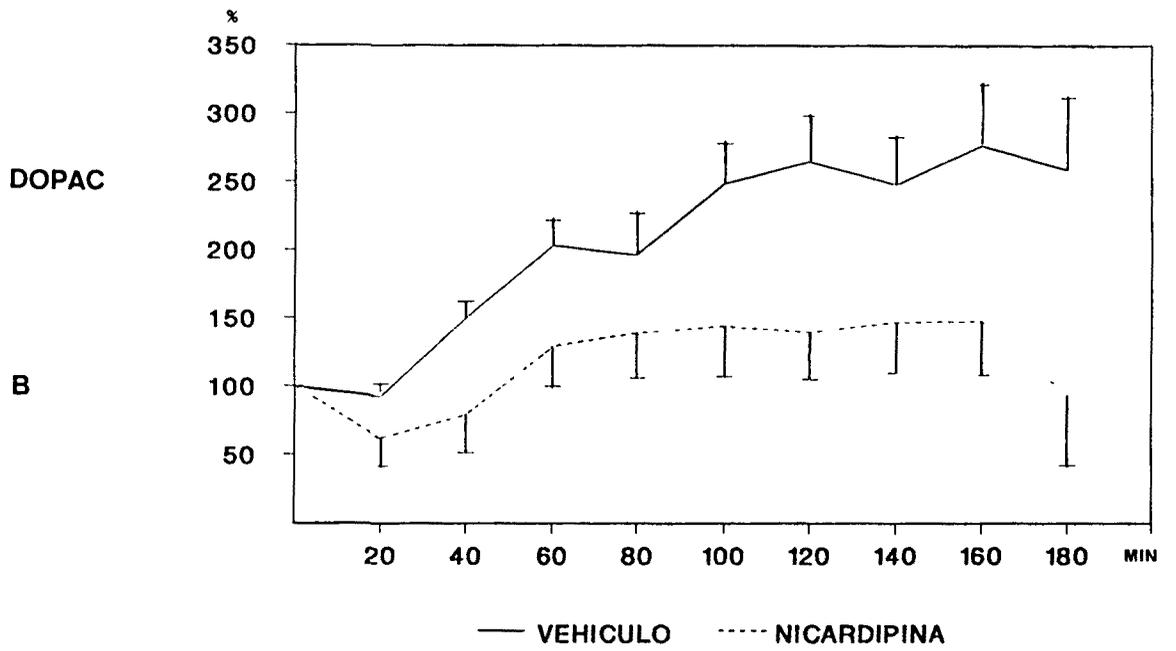
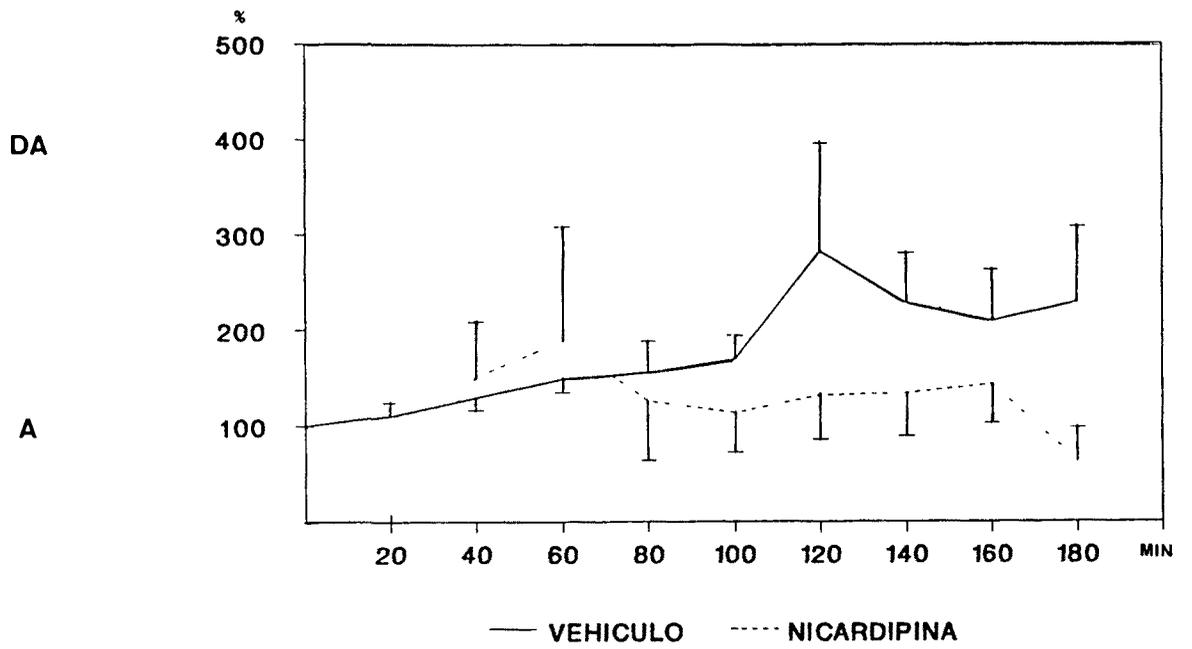


Fig. 25. Niveles extracelulares de DA y sus metabolitos tras una administración de haloperidol en ratas pretratadas con nifedipina.

Los animales se trataron oralmente con nifedipina durante 18 días, antes de la administración sobreañadida del haloperidol.

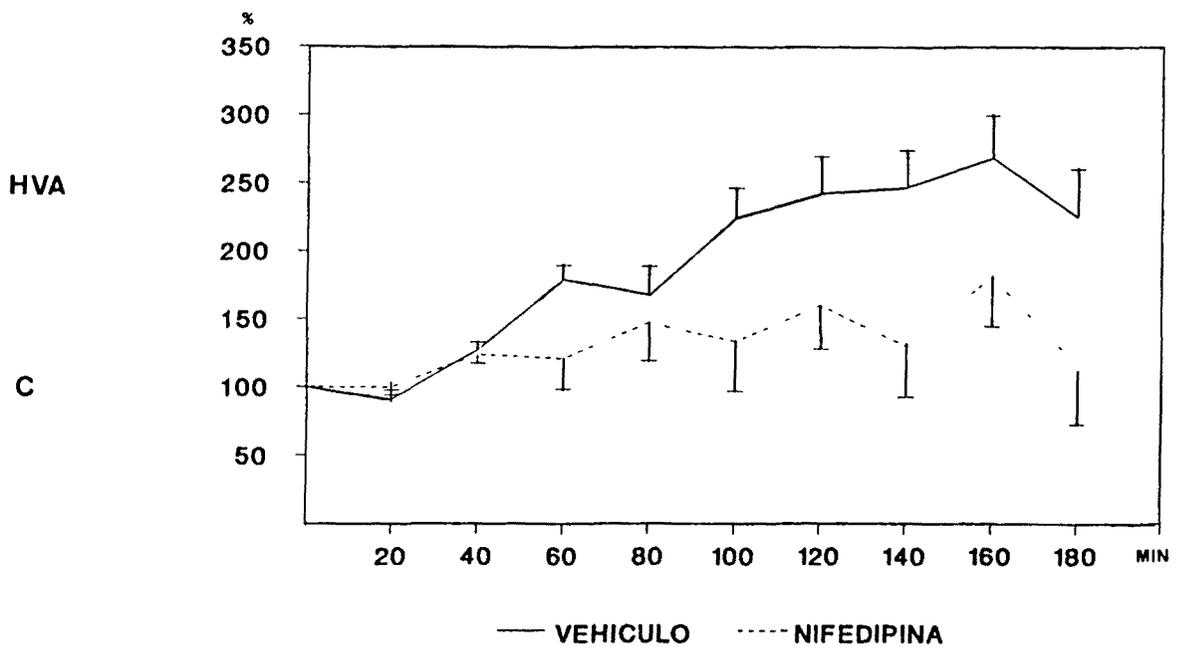
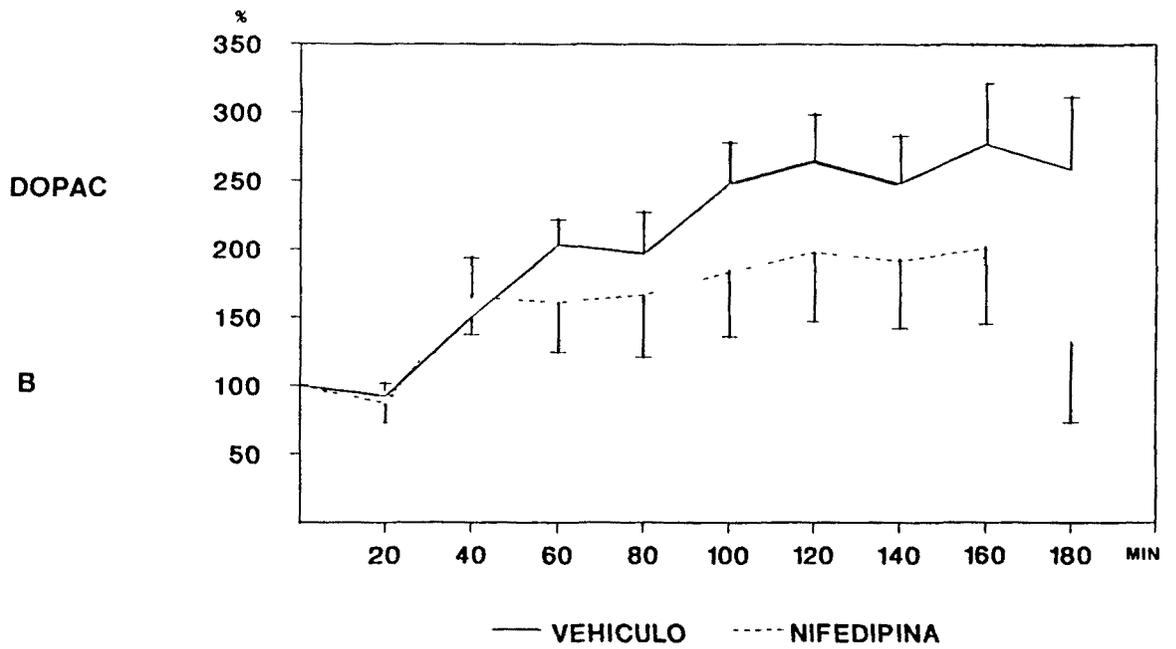
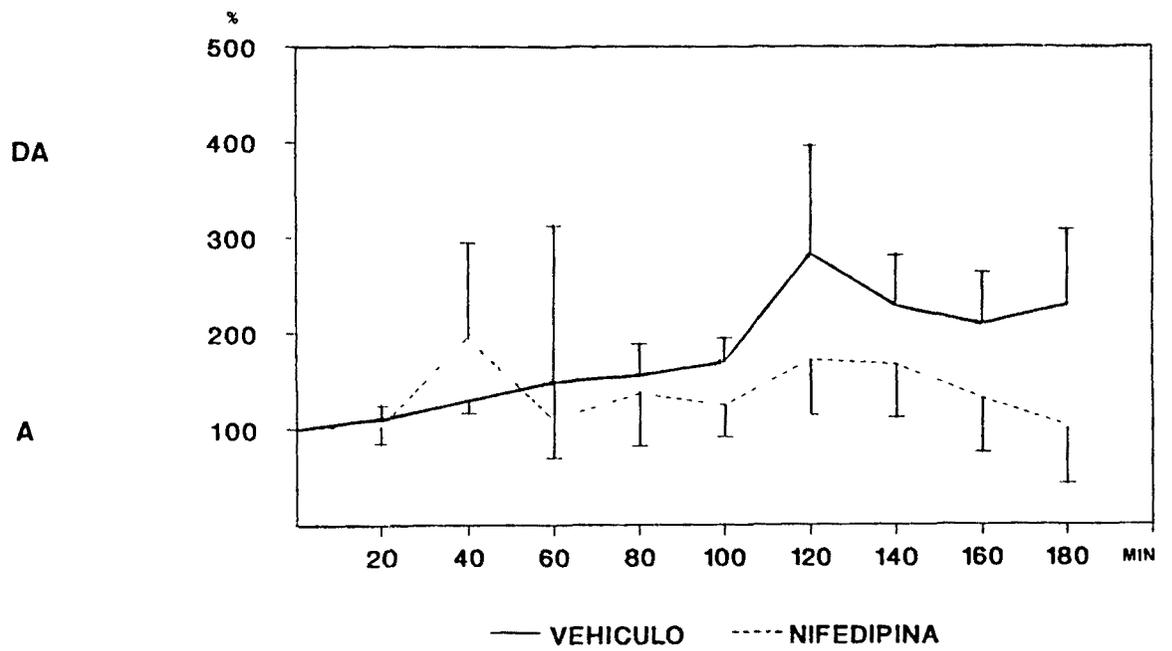
Los datos se expresan como % (media \pm SEM, n=7 animales) de los valores correspondientes a las muestras obtenidas durante el cambio del líquido de perfusión realizado tras la administración de potasio.

Se compara cada rata con respecto a sí misma y el grupo tratado con respecto al que se administró vehículo (control). Se utilizó una U de Mann-Whitney.

A:niveles de DA. No hubo cambios significativos en las ratas ni con respecto a sí mismas ni con respecto a las ratas control.

B:niveles de DOPAC. Se observó un incremento significativo $p\leq 0.05$ desde los 20 min de la administración del haloperidol. No hubo cambios significativos con respecto a las ratas control.

C:niveles de HVA. Se observó un incremento significativo $p\leq 0.05$ desde los 20 min de la administración del haloperidol. Dicho incremento resultó significativamente menor $p\leq 0.01$ que el de las ratas control.



4. DISCUSION.

Estandarización del método de microdiálisis cerebral

Los niveles de los metabolitos de monoaminas en los dializados tienden a disminuir después de 4 h de perfusión continuada. La implantación de una cánula en el estriado produce un incremento en los niveles de dopamina y sus metabolitos con una disminución en los días siguientes. Los niveles de metabolitos en los dializados tienen un perfil temporal similar al del tejido hasta el cuarto día postimplantación. Después, los niveles en los dializados continúan disminuyendo mientras que en el tejido tienden a estabilizarse.

El incremento en los niveles de todos los metabolitos observado a las 24 h de la implantación de la fibra sugiere activación del metabolismo de monoaminas inducido por trauma quirúrgico de las terminales monoaminérgicas del estriado.

La introducción de cánulas produce una reacción en el cerebro. Edvinsson y cols. (1971) observaron un incremento en la presión del líquido cefalorraquídeo que comenzó una hora después de la introducción de una cánula en el ventrículo lateral de un conejo y que alcanzó un máximo 5 veces superior a la presión inicial al cabo de 4-6 h. No comenzó una disminución hasta 30-35 h después de la implantación.

Además de los efectos de la cirugía la perfusión por sí misma puede producir activación mecánica y química del metabolismo de monoaminas. Los efectos mecánicos pueden depender de los cambios de la presión hidrostática en el compartimento extracelular del

cerebro. Los efectos químicos pueden estar relacionados con la composición iónica del líquido de perfusión. En estos experimentos se utilizó una solución de Ringer cuyas concentraciones de Ca^{++} y K^+ son superiores a las del líquido extracelular en el cerebro lo que podría explicar que el metabolismo de monoaminas se activase por la perfusión.

Siete días después de la introducción de la fibra de diálisis los niveles de DA estuvieron significativamente reducidos en el estriado implantado comparado con el no implantado. Hakim y cols. (1984) han mostrado que la membrana de cuprofano desencadena una reacción de hipersensibilidad. Esta reacción puede producir daño a las terminales dopaminérgicas presinápticas. Otros mecanismos como infiltración del estriado implantado por células inflamatorias, edema local o algún otro no pueden ser excluidos. Los niveles de 5-HT y noradrenalina permanecieron estables indicando una mayor sensibilidad de las terminales dopaminérgicas.

Se observó una buena correlación en el curso temporal de los niveles de metabolitos en tejido estriatal y en dializados durante los primeros 4 días de perfusión. Después hubo un mayor descenso en los niveles de metabolitos en los dializados indicando una dificultad en atravesar la membrana de diálisis. Ha sido descrita una capa de glía alrededor de la cánula 4 días después de la implantación (Imperato y Di Chiara, 1985; Ballarín, 1990).

De estos experimentos se deduce que el mejor período para la diálisis está entre el primer y cuarto día después de la implantación de una fibra. Durante este período la presión intracraneal está próxima a los niveles basales y hay una buena

correlación en el curso temporal de los niveles de los metabolitos de monoaminas en los dializados y en el tejido estriatal.

A partir de estos estudios, los experimentos en que se utilizó esta técnica en el presente trabajo, se efectuaron a las 48 h de la implantación para evitar el fuerte incremento en los niveles de DA y sus metabolitos observado a las 24 h postimplantación.

Estudio del funcionalismo dopaminérgico en el cerebro de rata tras la administración de fármacos antagonistas de canales de calcio.

Ninguno de los fármacos en estudio modifica los niveles estriatales de DA, con excepción de la cinnarizina que los incrementa después de un tratamiento crónico con dosis elevadas. En tejido límbico, por el contrario, se observa un descenso en todos los casos que resulta significativo con la nifedipina.

Se encuentra un incremento significativo en los niveles tisulares estriatales de los metabolitos dopaminérgicos tras una única dosis elevada de flunarizina así como un aumento en la actividad del enzima tirosina hidroxilasa. Tras la administración repetida de dosis elevadas de flunarizina o cinnarizina se observa una disminución significativa de los niveles de DOPAC tanto en tejido estriatal como límbico. El tratamiento crónico con haloperidol da lugar a un descenso en los niveles de ambos metabolitos dopaminérgicos en tejido, tanto estriatal como límbico, con mayor afectación del HVA. Con la administración continuada de dosis medias de fármacos antagonistas de canales de calcio se observa que la cinnarizina da lugar a una disminución

significativa en los niveles de HVA en ambos tejidos, y la flunaricina y la nicardipina incrementan de un modo leve los metabolitos en estriado y límbico (a excepción del DOPAC en tejido límbico con la nicardipina).

En líquido extracelular estriatal se observa que una única administración de haloperidol o de una dosis media de nicardipina o flunaricina aumenta los niveles de dopamina, y además la flunaricina y el haloperidol los niveles de sus metabolitos. La administración repetida de haloperidol da lugar a un incremento tanto de la DA extracelular como de sus metabolitos. Los niveles de DA en el espacio extracelular resultan significativamente disminuídos tras la administración continuada de dosis medias de flunaricina mientras que con las dihidropiridinas hay un incremento en los niveles extracelulares de la misma. Después de un tratamiento crónico con dosis medias de fármacos antagonistas de los canales de calcio se observa con la cinaricina un aumento de los niveles de DOPAC, con el verapamil un incremento significativo en los niveles de HVA y con la flunaricina un descenso significativo en los niveles de HVA en el líquido extracelular estriatal. El pretratamiento continuado con haloperidol o con dosis medias de fármacos antagonistas de los canales de calcio no disminuye la respuesta extracelular estriatal de la dopamina y sus metabolitos al estímulo despolarizante del potasio. En cambio, en ambos casos se observa una respuesta menor a una administración sobreañadida de haloperidol.

La administración aguda de bloqueantes de receptores dopaminérgicos incrementa la actividad eléctrica de las células dopaminérgicas (Bunney y Grace, 1978), aumenta el recambio de DA

(Lerner y cols.,1977; Hong y cols.,1987) y acelera la síntesis de dopamina (Scatton y cols.,1975; Lerner y cols.,1977; Bannon y Roth,1983). Este incremento en la síntesis de dopamina ocurre a nivel del enzima TH (Zivkovic y Guidotti,1974; Lerner y cols.,1977) y se explica en parte como resultado de la habilidad de los neurolépticos para bloquear los receptores postsinápticos, incrementando la actividad dopaminérgica por medio de un mecanismo de retroalimentación neuronal, y en parte debido a una interacción con los autoreceptores, eliminando la inhibición tónica ejercida por éstos sobre las neuronas dopaminérgicas (Di Chiara y cols.,1978; Westerink y De Vries,1989a). Una dosis de haloperidol, previa a la administración de NSD, produce un incremento marcado en la concentración tisular de L-DOPA (Bannon y Roth,1983; Watanabe,1987).

El incremento en los niveles tisulares de DOPAC Y HVA producido por una dosis elevada de flunaricina podría ser secundario al bloqueo de los receptores D₂ dopaminérgicos. La flunaricina in vitro desplaza la unión del [³H]spiroperidol a las membranas sinápticas procedentes de estriado de rata de un modo dosis dependiente (Govoni y cols.,1988a), lo que se explica por la parte fenilalquilamina de su molécula ya que este efecto se ha encontrado además para el verapamil, el D-600 y la nicardipina (De Vries y Beart,1984) que también poseen esta característica molecular. La cinaricina contiene asimismo dicho radical pero en cambio no se encuentran los mismos cambios agudos tisulares en el metabolismo de la dopamina tras el tratamiento con este fármaco o con las dihidropiridinas. Los niveles plasmáticos de las dihidropiridinas se alcanzan 1-3 horas tras su administración de modo que, 24 horas después, si ha habido

cambios, éstos pueden haber vuelto a los niveles basales. Los posibles efectos de la cinaricina en el cerebro pueden no producirse hasta pasadas más horas que las utilizadas en este experimento.

Tanto en tejido estriatal como límbico de ratas tratadas con dosis elevadas repetidas de flunaricina o cinaricina se observa una disminución significativa en los niveles del DOPAC. En los estudios de administración continuada de dosis medias de antagonistas de canales de Ca^{++} se encuentra una disminución en los valores de HVA con la cinaricina. El haloperidol crónico causa una disminución en ambos metabolitos dopaminérgicos tisulares.

El tratamiento repetido con neurolépticos produce una disminución de los metabolitos dopaminérgicos en tejido (Lerner y cols.,1977; Mefford y cols.,1988), un descenso en la síntesis de DA (Scatton y cols.,1975) y una reducción significativa en el número de neuronas espontáneamente activas (Bunney y Grace,1978; Chiodo y Bunney,1983; Grace y Bunney,1986; Jiang y cols.1988; Skarsfeldt,1988).

La flunaricina y nicardipina muestran una tendencia opuesta, a incrementar los metabolitos tisulares, lo que puede depender de la dosis empleada y el tipo de molécula. Diversos autores insisten sobre el comportamiento diferente de los neurolépticos según la dosis empleada y el tipo de fármaco (Clow y cols.,1980; Chiodo y Bunney,1983; Boyson y cols.,1988; Lane y cols.,1988; Mefford y cols.,1988; Skarsfeldt,1988; Hu y Wang,1989). Así Tecott y cols. (1986) muestran un incremento en el número de receptores D_2 siguiendo a un tratamiento crónico con haloperidol y una disminución con pimozide. Por otro lado Govoni y cols.

(1988b) encuentran que la flunaricina aumenta el número de receptores dopaminérgicos de tipo D₂ y disminuye el número de receptores de tipo D₁ tras una administración crónica lo que sugiere un modo de comportamiento diferente al de los neurolépticos clásicos.

Por otro lado hay que considerar que los bloqueantes de canales de calcio disminuyen la entrada de iones de calcio dentro de la célula, de modo que diferentes procesos en los que interviene este catión pueden resultar afectados. Se ha descrito una fosforilación dependiente de calcio necesaria para la activación del enzima TH (El Mestikawy y cols.,1983) por lo que una reducción en la síntesis de dopamina sería una consecuencia de una disminución en el influjo de calcio. Pileblad y Carlsson (1987) hablan de este posible mecanismo. Pero resulta difícil mantener esta suposición sin una afectación concomitante de la actividad del enzima, y no se observaron cambios en dicha actividad tras la administración crónica de cinaricina o flunaricina. Fujisawa y Okuno (1989) mantienen que la regulación de la actividad de la TH en el sistema nervioso central es muy compleja y la fosforilación dependiente de Ca⁺⁺/CaM no es la más importante. El efecto sobre los niveles de DA fué mayor en el tejido límbico donde los autorreceptores son más sensibles a la dopamina y agonistas dopaminérgicos que en el estriatal (Bannon y Roth,1983).

El hecho de que la cinaricina crónica a dosis elevadas cause un aumento significativo en los niveles de DA estriatales es compatible con un bloqueo total del encendido de las neuronas como sucede en el caso de la gammabutirolactona (Imperato y Di Chiara,1985).

El aumento observado en los metabolitos dopaminérgicos en los dializados estriatales tras el tratamiento agudo con algunos de los fármacos, no se correlaciona directamente con cambios en la cantidad de DA liberada. Así, la flunaricina y la nicardipina presentan un mayor efecto sobre la liberación de DA (119% y 92% respectivamente) que sobre los niveles de sus metabolitos (entre un 25 y un 50% en el caso de la flunaricina y ningún cambio apreciable en el de la nicardipina) al contrario del haloperidol que provoca una afectación mayor de los valores de los metabolitos dopaminérgicos (207-258%) que de la liberación de DA (120%).

La diferencia de comportamiento de la nicardipina y flunaricina con respecto al haloperidol (más afectación de la liberación de DA que de su metabolismo en el primer caso y del metabolismo que de la liberación en el segundo caso) puede deberse a las dosis empleadas. Está descrito que la administración única de haloperidol produce un efecto diferente según la dosis (Zetterström y cols.,1985). Una dosis de 2 mg/kg aumenta marcadamente la liberación de DA (>200%) y apenas afecta a los niveles de sus metabolitos en el espacio extracelular mientras que 0.5 mg/kg produce un mínimo efecto sobre la liberación de DA (25%) y un gran efecto sobre los niveles de DOPAC y HVA (>150%). Igual sucede con otros neurolepticos (Zetterström y cols.,1985; Imperato y Di Chiara,1985; Moghaddam y Bunney,1990).

El encontrar una pobre correlación entre la intensidad de los cambios en los niveles extracelulares de dopamina y de sus metabolitos hace surgir una serie de cuestiones.

Los niveles basales de DA recuperados en los dializados

reflejan cambios en la liberación (se ha podido inhibir ésta con bajas dosis de apomorfinas, Zetterström y Ungerstedt, 1984) mientras que las mediciones in vivo del DOPAC ó HVA extracelular pueden no ser una verdadera representación de la liberación de DA.

El incremento en los niveles extracelulares de los metabolitos dopaminérgicos siguiendo a una administración de neurolepticos no refleja la liberación de DA sino, probablemente, un incremento en la síntesis de la misma. Hay una sobreproducción de DA recién sintetizada en la terminal nerviosa que es metabolizada rápidamente y no alcanza los gránulos de almacenamiento (Zetterström y cols., 1985).

Es posible que el aumento en la liberación de DA que sigue al tratamiento agudo con neurolepticos esté mediado por un mecanismo diferente al que causa un incremento en el metabolismo de la dopamina.

Experimentos hechos en diálisis con agonistas y antagonistas puros D_1 ó D_2 (Zetterström y cols., 1986) muestran que la administración del agonista D_2 , LY 171555, o del agonista D_1 , SKF 38393, reduce los niveles de DA en dializados. Dosis altas o bajas del antagonista D_1 , SCH 23390 no producen cambios en la liberación de DA. Por el contrario, el antagonista D_2 , sulpiride, a dosis bajas, no da lugar a cambios en la liberación de DA, pero a dosis altas la aumenta mucho. La disminución de los niveles de DA inducida por el agonista D_2 no se afecta por el tratamiento previo con el antagonista D_1 , ni el pretratamiento con el antagonista D_2 tiene efecto en la reducción de DA debida al agonista D_1 . De lo que se deduce que la liberación de DA tiene lugar por mecanismos independientes ligados al receptor D_1 ó D_2

aunque parece que hay un predominio del receptor D₂.

En lo que se refiere al metabolismo, los niveles de DOPAC disminuyen siguiendo al agonista D₂ pero no al agonista D₁. La administración del antagonista D₁, SCH 23390, a dosis bajas no produce cambios en el nivel del DOPAC mientras que su aplicación a dosis altas o la del sulpiride a dosis alta o baja aumenta los niveles del metabolito.

El pretratamiento con el antagonista D₁, SCH 23390, a dosis bajas, que por sí solo no incrementa los niveles de DOPAC, impide la reducción de DOPAC debida al agonista D₂. Por su parte el sulpiride a dosis bajas causa un incremento en los niveles de DOPAC, que no resulta afectado ni por el agonista D₁ ni D₂. Así, parece que el metabolismo dopaminérgico es controlado por un mecanismo acoplado al receptor D₂ que puede ser influenciado por el receptor D₁.

En resumen la liberación de DA en el estriado de rata está autorregulada por mecanismos ligados a los receptores dopaminérgicos de tipo D₁ ó de tipo D₂ de un modo independiente.

Por el contrario, la síntesis y metabolismo de DA está regulada por un mecanismo acoplado a los receptores D₂ que puede resultar influenciado por los receptores D₁. De modo que la liberación y la síntesis/metabolismo pueden cambiar de un modo independiente entre sí (Sharp y cols.,1986; Zetterström y cols.,1988).

Según ésto, a las dosis empleadas en este estudio el efecto producido por la administración aguda de flunaricina o haloperidol sobre los niveles extracelulares de DA y sus metabolitos podría ser mediado por receptores dopaminérgicos de tipo D₁ y D₂ mientras que el de la nicardipina implicaría la

participación de los receptores dopaminérgicos D₂. La aparente falta de respuesta de los otros fármacos estudiados podría deberse a no haber alcanzado niveles activos en el cerebro en el momento de la diálisis. A dosis terapéuticas el verapamil (Doran y cols.,1985) y otros antagonistas del Ca⁺⁺ como la nifedipina y el diltiazem (Snyder y Reynolds,1985) muestran lentitud de entrada en el cerebro.

Por otro lado, el tratamiento crónico muestra un incremento en la DA extracelular en el caso del haloperidol, o en los metabolitos dopaminérgicos en el del haloperidol, la cinaricina y el verapamil, lo que hace pensar en un aumento de la salida de DA al espacio extracelular y/o una dificultad en la recaptación. Resultados similares muestran Zhang y cols.(1989) que, tras un tratamiento de 21 días con 1mg/kg de haloperidol, encuentran niveles elevados de DA en el espacio extracelular.

El tratamiento crónico con neurolépticos puede provocar un descenso en el número de neuronas que se encienden espontáneamente en la sustancia negra (Bunney y Grace,1978; Chiodo y Bunney,1983; Grace y Bunney,1986; Jiang y cols.,1988) que es observado ya a los 15 días de administración continuada (White y Wang,1983). El grado de inactivación de las neuronas depende del tipo y la dosis del neuroléptico (Chiodo y Bunney,1983; Skarsfeldt,1988). Esta disminución de la actividad de las neuronas dopaminérgicas se debe a una inactivación por despolarización (Gace y Bunney,1986) y se piensa que daría lugar a una disminución de la síntesis y liberación de dopamina.

Pero la inactivación por despolarización también puede afectar la recaptación de dopamina. La liberación de DA presenta dos componentes, uno dependiente de Ca⁺⁺ que es la exocitosis clásica

y otro independiente de Ca^{++} y dependiente de Na^+ que es realizado por medio de un transportador de Na^+ y DA según el gradiente de Na^+ (Liang y Rutledge, 1982; Krueger, 1990). Si éste es superior en el interior de la neurona el transportador funcionará hacia afuera y a la inversa en el caso contrario. En un bloqueo por despolarización predominará el transporte hacia afuera dificultando la recaptación de dopamina.

El verapamil, la nicardipina y el D-600 in vitro desplazan la unión del [3H]spiroperidol a las membranas sinápticas procedentes de estriado de rata de un modo dosis dependiente (De Vries y Beart, 1984), lo que se explica por la parte fenilalquilamina de su molécula, de modo que pueden comportarse como neurolépticos y causar una inactivación por despolarización y una dificultad en la recaptación de dopamina. Pero se observa, además, que los fármacos antagonistas de los canales de calcio empleados muestran más notoriamente su efecto inhibitor de la recaptación después de la despolarización con potasio, cuando hay más DA en el espacio extracelular, lo que hace pensar en un efecto del bloqueo de estos canales de calcio voltaje dependientes sobre el mecanismo de recaptación de dopamina. De hecho, el verapamil inhibe el mecanismo de recaptación de alta afinidad, dependiente del Na^+ , para la serotonina, dopamina, noradrenalina y colina en sinaptosomas de cerebro de rata (McGee y Schneider, 1979; Brown y cols., 1986). Apoya esta idea la dificultad en la recaptación de DA causada por la nifedipina, único fármaco de los utilizados que no posee el componente fenilalquilamina en su molécula y no desplaza el [3H]spiroperidol de las membranas estriatales (De Vries y Beart, 1984).

La disminución en los niveles de DA y HVA extracelulares

debida al tratamiento repetido con flunaricina, que también desplaza la unión de [³H]spiroperidol a membranas estriatales (Govoni y cols.,1988a), podría deberse a la diferente respuesta de las neuronas dopaminérgicas según el tipo y la dosis del neuroléptico según la idea expuesta por diversos investigadores (Clow y cols.,1980; Chiodo y Bunney,1983; Boyson y cols.,1988; Lane y cols.,1988; Mefford y cols.,1988; Skarsfeldt,1988; Hu y Wang,1989). Así, Hernández y Hoebel (1989) encuentran una disminución de los niveles de ambos metabolitos dopaminérgicos en dializados estriatales después de un tratamiento de 29 días con 0.5 mg/kg de haloperidol al contrario de Zhang (1989) que no observa cambio en los metabolitos tras 21 días con 1mg/kg de haloperidol. Por otro lado, Govoni y cols. (1988b) muestran que la flunaricina crónica aumenta el número de receptores dopaminérgicos de tipo D₂ y, además, disminuye el número de receptores de tipo D₁ lo que sugiere un modo de comportamiento diferente al de los neurolépticos clásicos.

Así como los antagonistas de canales de calcio utilizados en este estudio poseen un componente neuroléptico en su molécula, con excepción de la nifedipina, hay neurolépticos que son además bloqueantes de canales de entrada de calcio en la célula. Las difenilbutilpiperidinas (pimozide) tienen igual potencia como antagonistas de receptores D₂ que como antagonistas de canales de calcio mientras que las butirofenonas y fenotiazinas son más débiles como antagonistas de canales de calcio que como bloqueantes de los receptores dopaminérgicos (Snyder y Reynolds,1985).

Se podría pensar como Snyder y Reynolds (1985), que el efecto neuroléptico se debería a la interacción con un receptor y el

antagonista de canales de calcio a la interacción con otro. Pero los antagonistas de canales de calcio pueden ser bloqueantes de los receptores de DA o por similitud en su molécula y/o por bloqueo funcional del receptor. Se sabe que el receptor de DA de tipo D_2 actúa produciendo una hiperpolarización (Lacey y cols.,1987; Freedman y Weight,1988; Drukarch y cols.,1989; Vallar y Meldolesi,1989) al abrir un canal de K^+ , probablemente a través de una proteína G (Sasaki y Sato,1987). El hecho de que existan canales de K^+ sensibles al Ca^{++} y que son bloqueados por antagonistas de canales de calcio (Moolenaar y Spector, 1979) lleva a pensar que el receptor de DA puede dejar de funcionar si no funciona el o los canales de K^+ , por antagonismo de los canales de calcio de los que dependen aquellos.

Por otra parte al causar una hiperpolarización de la neurona al abrir canales de K^+ , la DA y los agonistas dopaminérgicos disminuyen la entrada de calcio en la célula (Memo y cols.,1985; Fujiwara y cols.,1987; Crowder y Bradford,1987; Drukarch y cols.,1989) ya que al cambiar el voltaje bloquean la forma activa del canal de calcio (Bean,1989b).

Puede suceder que un tratamiento crónico con antagonistas dopaminérgicos, al provocar un bloqueo por despolarización bloquee también la forma activa del canal de calcio, lo que explicaría el efecto antagonista de canales de calcio que tienen algunos neurolepticos.

Los resultados obtenidos en los niveles extracelulares de DA y sus metabolitos tras la despolarización por potasio en las ratas tratadas con vehículo se adaptan a lo descrito en la literatura (Zetterström y cols.,1988; Westerink y cols.,1989b) lo que va a favor de la validez del método. Ninguno de los

fármacos utilizados en este trabajo disminuye la respuesta al estímulo despolarizante del potasio que provoca una liberación de dopamina calcio dependiente y voltaje independiente (Westerink y cols.,1989b; Fairbrother y cols.,1990) lo que apoyaría el que los antagonistas de los canales de calcio aquí estudiados actúan sobre el canal de Ca^{++} voltaje-dependiente de tipo L (Vandaele y cols.,1987; Hosey y Lazdunski,1988) cuya situación se ha descrito en dendritas y somas (Cortés y cols.,1984; Sanna y cols.,1986; Ahlijanian y cols.,1990), no en terminales axonales y por tanto su bloqueo no influiría en la entrada de calcio necesaria para la liberación de neurotransmisores, que parece depender de los canales de calcio voltaje dependientes de tipo N (ver págs. 64 y 65).

La respuesta en los niveles extracelulares estriatales de DA y sus metabolitos producida por una dosis de haloperidol en las ratas tratadas con vehículo también se adapta a la descrita en la literatura (Imperato y DiChiara,1985; Zetterström y cols.,1985). La liberación de dopamina provocada por una dosis de haloperidol es dependiente del voltaje y del calcio (Westerink y cols.,1989b). La administración sobreañadida de haloperidol a un animal ya tratado con haloperidol produce un efecto menor que en uno al que se da por vez primera (Di Chiara e Imperato,1985; Hernández y Hoebel,1989; Zhang y cols,1989), lo que se explica por una menor respuesta de las neuronas dopaminérgicas debida al tratamiento. Efecto que se observa también en el caso de todos los fármacos utilizados en este estudio. Los cambios debidos al tratamiento con nifedipina, único fármaco de los estudiados que no posee el componente fenilalquilamina, se explicarían por una competencia por el receptor dopaminérgico, del haloperidol con

la dopamina extracelular aumentada.

Se podría pensar que el efecto encontrado por un estímulo sobreañadido de haloperidol se debe a una menor entrada de calcio al interior celular. Pero ésto se descarta al observar que el bloqueo de estos canales de calcio no afecta a la acción del potasio que provoca una liberación de dopamina calcio dependiente pero voltaje independiente (Westerink y cols.,1989b; Fairbrother y cols.,1990).

En resumen, en este estudio se muestra la utilidad de la técnica de microdiálisis cerebral para observar los efectos producidos por fármacos a nivel del espacio extracelular del estriado de rata. Los experimentos en tejido no permiten una observación tan cuidadosa de los cambios en el tiempo de las células ante un tratamiento.

La administración de diversos fármacos antagonistas de canales de calcio provoca una afectación del funcionalismo dopaminérgico. El tratamiento agudo con los fármacos estudiados muestra cambios compatibles con un aumento en la actividad dopaminérgica mientras que la administración crónica resulta en el efecto contrario, lo que hace pensar en un mecanismo de acción similar al de los neurolépticos.

El grupo de Bunney siempre ha mantenido que la acción crónica de los neurolépticos es debida a una despolarización repetida de la célula que conduce al cese del encendido de un gran número de neuronas. Es lo que se llama bloqueo por despolarización. Según esta idea resulta, cuanto menos, paradójico hablar de la existencia de una tolerancia de las células dopaminérgicas al tratamiento neuroléptico cuando en realidad disminuyen su función en mayor o menor grado según el tipo y la dosis del neuroléptico

utilizado. Esta disminución puede resultar catastrófica en el envejecimiento en que hay un descenso en los lugares de captación de dopamina, lo que confirma pérdida de axones en relación con la edad (Tedroff y cols.,1988; De Keyser y cols.,1990), el manejo del calcio está alterado, habiéndose encontrado una reducción marcada de la captación de Ca^{++} por canales de calcio y una disminución en el intercambio Ca^{++}/Na^{+} (Martínez y cols.,1987), y se encuentra una reducción en la velocidad de recuperación de los receptores dopaminérgicos (Battaglia y cols.,1988).

Los efectos encontrados a nivel extracelular orientan además a una alteración en la recaptación de dopamina, lo que podría deberse a la despolarización por el bloqueo crónico de los receptores de dopamina con la consiguiente inversión en el transportador. Pero el hecho de observarse este efecto de un modo más intenso tras la despolarización con potasio y de que la nifedipina, único fármaco de los empleados en este estudio que no posee el componente fenilalquilamina en su molécula, también afecte la recaptación, hace pensar que los canales de calcio voltaje dependientes de tipo L intervienen en el mecanismo de transporte activo de la dopamina.

Asimismo la falta de efecto del bloqueo de los canales de tipo L sobre la liberación de dopamina provocada por potasio apoya la idea de que estos canales no influyen en la entrada de calcio necesaria para la liberación de dopamina.

Una inyección de haloperidol sobreañadida a un tratamiento crónico con los diversos fármacos, tiene un efecto significativamente menor que una primera y única administración de haloperidol lo que se piensa es debido a una menor sensibilidad celular provocada por los diversos tratamientos.

5. CONCLUSIONES.

Estandarización del método de microdiálisis cerebral

1. El método de diálisis intraestriatal es adecuado para el estudio de los cambios en la DA y sus metabolitos producidos a nivel del espacio extracelular siempre que se utilice pasadas las 24 horas de la implantación y antes de los 4 días de la misma.

2. Este método permite la observación del efecto producido en el tiempo por la administración de diversos fármacos en el comportamiento de las terminales dopaminérgicas.

Estudio del funcionalismo dopaminérgico en el cerebro de rata tras la administración de fármacos antagonistas de los canales de calcio

1. El tratamiento con fármacos antagonistas de los canales de calcio produce una afectación en el funcionalismo dopaminérgico.

2. Los datos obtenidos en este estudio hacen pensar que los fármacos antagonistas de los canales de calcio que poseen un radical fenilalquilamina en su molécula tienen un mecanismo de acción similar al de los neurolepticos.

3. La respuesta de los niveles extracelulares de dopamina al estímulo con potasio tras un tratamiento crónico con nifedipina, único fármaco de los utilizados que carece del radical

fenilalquilamina, sugiere que los canales del calcio dependientes de voltaje de tipo L intervienen en el mecanismo de transporte activo de la dopamina.

4. El bloqueo de los canales de calcio dependientes de voltaje de tipo L producido por el tratamiento crónico con los diversos fármacos no disminuye la respuesta al estímulo despolarizante del potasio lo que apoya la idea de que este tipo de canales de calcio no participa en la entrada de calcio necesaria para la liberación de dopamina.

5. El estímulo sobreañadido de haloperidol a una administración repetida de los diversos fármacos provoca una respuesta menor que la producida por una única dosis del mismo lo que indica una disminución del encendido de las neuronas dopaminérgicas provocada por el tratamiento.

6. BIBLIOGRAFIA.

- Ahlijanian M.K., Westenbroek R.E. y Catterall W.A. (1990) Subunit structure and localization of dihydropyridine sensitive calcium channels in mammalian brain, spinal cord and retina. *Neuron* 4, 819-832.
- Allewijn F.T.N. (1968) The distribution of cinnarizine and its metabolites in the rat. *Life Sci.* 7, 989-994.
- Almers W. y Tse E.W. (1990) Transmitter release from synapses: does a preassembled fusion pore initiate exocytosis? *Neuron* 4, 813-818.
- Anton A.H. y Sayre D.F. (1962) A study of the factors affecting the aluminium oxide trihydroxyindole procedure for analysis of catecholamines. *J. Pharmacol.* 138, 360-375.
- Ballarin M., Herrera-Marschitz M., Casas M. y Ungerstedt U. (1987) Striatal adenosine levels measured "in vivo" by microdialysis in rats with unilateral dopamine denervation. *Neurosci. Lett.* 83, 338-344.
- Ballarin M. (1990) Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Barcelona.
- Bannon M.J. y Roth R.H. (1983) Pharmacology of mesocortical dopamine neurons. *Pharmacol. Rew.* 35, 53-68.
- Baum B.J., Ambudkar I.S. y Horn V.J. (1988) Evidence that ATP dependent Ca^{2+} transport in rat parotid microsomal membranes requires charge compensation. *Biochem. J.* 254, 649-654.
- Battaglia G., Norman A.B. y Creese I. (1988) Age-related differential recovery rates of rat striatal D1 dopamine receptors following irreversible inactivation. *Eur. J. Pharmacol.* 145, 281-290.
- Bean B.P. (1989a) Neurotransmitter inhibition of neuronal calcium currents by changes in channel voltage dependence. *Nature* 340, 153-156.
- Bean B. (1989b) More than a Ca^{2+} channel? *TINS* 12, 128-130.
- Benveniste H. (1989) Brain microdialysis. *J. Neurochem.* 52, 1667-1679.
- Benveniste H. y Hüttemeier P.Ch. (1990) Microdialysis—Theory and application. *Prog. Neurobiol.* 35, 195-215.
- Birnbaumer L. (1990) G proteins in signal transduction. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30, 675-705.
- Blaustein M.P. (1988) Calcium transport and buffering in neurons. *TINS* 11, 438-443.
- Bonzellius F. y Zimmermann H. (1990) Recycled synaptic vesicles contain vesicle but not plasma membrane marker, newly synthesized acetylcholine, and a sample of extracellular medium. *J. Neurochem.* 55, 1266-1273.
- Borison R.L., Hitri A., Blowers A.J. y Diamond B.I. (1983) Antipsychotic drug action: clinical, biochemical and pharmacological evidence for site specificity of action. En: *Clin. Neuropharmacol.* v. 8, n° 2. (Raven Press). New York.

- Boyson S.J., McGonigle P., Luthin G.R., Wolfe B.B. y Molinoff P.B. (1988) Effects of chronic administration of neuroleptic and anticholinergic agents on densities of D₂ dopamine and muscarinic cholinergic receptors in rat striatum. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 244, 987-993.
- Brady R.C., Cabral F.R., Schibler M.J. y Dedman J.R. (1985) Cellular localization of calmodulin and calmodulin acceptor proteins. En: *Calcium and cell physiology*. ed. D. Marmé (Springer Verlag).
- Brinton R.E. (1990) Neuromodulation: associative and nonlinear adaptation. *Brain Res. Bull.* 24, 651-658.
- Brown N.L., Sirugue O. y Worcel M. (1986) The effect of some slow channel blocking drugs on high affinity serotonin uptake by rat brain synaptosomes. *Eur. J. Pharmacol.* 123, 161
- Bunney, B.S. y Grace A.A. (1978) Acute and chronic haloperidol treatment: comparison of effects on nigral dopaminergic cell activity. *Life Sci.* 23, 1715-1728.
- Campbell K.P., Leung A.T. y Sharp A.H. (1988) The biochemistry and molecular biology of the dihydropyridine sensitive calcium channel. *TINS* 11, 425-430.
- Carboni E., Imperato A., Perezzi L. y Di Chiara G. (1989) Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular dopamine concentrations preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Neurosci.* 28, 653-661.
- Carlsson A. (1986) Development of new pharmacological approaches in Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 45, 513-518.
- Clemens J.A. y Phebus L.E. (1983) Changes in brain chemistry produced by dopaminergic agents: in vivo electrochemical monitoring reveals opposite changes in anaesthetized vs unanaesthetized rats. *Brain Research* 267, 183-186.
- Clow A., Theodorou A., Jenner P. y Marsden C.D. (1980) Changes in rat striatal dopamine turnover and receptor activity during one years neuroleptic administration. *Eur. J. Pharmacol.* 63, 135-144.
- Cooper J.R., Bloom F.E. y Roth R.H. (1986) *The biochemical basis of neuropharmacology*. (Oxford University Press).
- Cortés R., Supavilai P., Karobath M. y Palacios J.M. (1984) Calcium antagonist binding sites in the rat brain: quantitative autoradiographic mapping using the 1,4 dihydropyridines [³H] PN 200-110 y [³H] PY 108-068. *J. Neural. Transm.* 60, 169-197.
- Crowder J.M. y Bradford H.F. (1987) Inhibitory effects of noradrenaline and dopamine on calcium influx and neurotransmitter glutamate release in mammalian brain slices. *Eur. J. Pharmacol.* 143, 343-352.
- Chéramy A., Barbeito L., Godeheu G., Desce J.M., Pittaluga A., Galli T., Artaud F. y Glowinski J. (1990) Respective contributions of neuronal activity and presynaptic mechanisms in the control of the in vivo release of dopamine. *J. Neural Transm.* [suppl] 29, 183-193.

- Chiodo L.A. y Bunney B.S. (1983) Typical and atypical neuroleptics: differential effects of chronic administration on the activity of A9 and A10 midbrain dopaminergic neurons. *J. Neurosci.* 3, 1607-1619.
- Chouza C., Scaramelli A., Caamaño J.L., De Medina O., Aljanati R. y Romero S. (1986) Parkinsonism, tardive dyskinesia, akathisia and depression induced by flunarizine. *Lancet* i, 1303.
- Delgado J.M.R., Lerma J., Martín del Río R., y Solís J.M. (1984) Dialytrode technology and local profiles of amino acids in the awake cat brain. *J. Neurochem.* 42, 1218-1228.
- Desmedt I.K.C., Niemegeers C.J.E. y Janssen P.A.J. (1975) Anticonvulsive properties of cinnarizine and flunarizine in rats and mice. *Arzneim. Forsch. (Drug Res.)* 25, 1408-1413.
- De Keyser J., Ebinger G. y Vauquelin G. (1990) Age-related changes in the human nigrostriatal dopaminergic system. *Ann. Neurol.* 27, 157-161.
- De Lorenzo R.J. (1985) Calcium and calmodulin control of neurotransmitter synthesis and release. En: *Calcium and cell physiology*. ed. D. Marmé (Springer Verlag).
- De Vries, D.J. y Beart Ph.M. (1984) Competitive inhibition of ^3H spiperone binding to D_2 dopamine receptors in striatal homogenates by organic calcium channel antagonists and polyvalent cations. *Eur. J. Pharmacol.* 106, 133-139.
- Di Chiara, G., Onali P.L., Tissari A.H., Porceddu M.L., Morelli M. y Gessa G.L. (1978) Destruction of post-synaptic dopamine receptors prevents neuroleptic-induced activation of striatal tyrosine hydroxylase but not dopamine synthesis stimulation. *Life Sci.* 23, 691-696.
- Di Chiara G. (1990) In vivo brain dialysis of neurotransmitters. *TIPS.* 11, 116-121.
- Dolphin A.C. (1987) Nucleotide binding proteins in signal transduction and disease. *TINS* 10, 53-57.
- Doran A.R., Narang P.K., Meigs C.Y., Wolkowitz O.M., Roy A., Breier A. y Pickar D. (1985) Verapamil concentrations in cerebrospinal fluid after oral administration. *N. Eng. J. Med.* 312, 1261-1262.
- Drukarch B., Schepens E., Schoffemeer A.N.M. y Stoof J.C. (1989) Stimulation of D_2 dopamine receptors decreases the evoked in vitro release of [^3H] acetylcholine from rat neostriatum: role of K^+ and Ca^{++} . *J. Neurochem.* 52, 1680-1685.
- Eberhard D.A. y Holz R.W. (1988) Intracellular Ca^{2+} activates phospholipase C. *TINS* 11, 517-520.
- Edvinsson, K.C., Owman Ch., y West K.A. (1971) Alterations in intracranial pressure, blood-brain barrier, and brain edema after sub-chronic implantation of a cannula into the brain of conscious animals. *Acta Physiol.Scand.* 82, 527-531.
- El Mestikawy, S., Glowinski J. y Hamon M. (1983) Tyrosine hydroxylase activation in depolarized dopaminergic terminals involvement of Ca^{2+} dependent phosphorylation. *Nature* 302, 830-832.

- Fadda F., Gessa G.L., Mosca E. y Stefanini E. (1989) Different effects of the calcium antagonists nimodipine and flunarizine on dopamine metabolism in the rat brain. *J. Neural Transm.* 75, 195-200.
- Fairbrother I.S., Arbuthnott G.W., Kelly J.S. y Butcher S.P. (1990) In vivo mechanisms underlying dopamine release from rat nigrostriatal terminals: II. Studies using potassium and tyramine. *J. Neurochem.* 54, 1844-1851.
- Freedman J.E. y Weight F.F. (1988) Single K⁺ channels activated by D₂ dopamine receptors in acutely dissociated neurons from rat corpus striatum. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA.* 85, 3618-3622.
- Fujisawa H. y Okuno S. (1989) Regulation of the activity of tyrosine hidroxilase in the central nervous system. *Adv. Enzyme Regul.* 29, 93-110 (Oxford).
- Fujiwara H., Kato N., Shunto H. y Tanaka Ch. (1987) D₂ dopamine receptor mediated inhibition of intracelular Ca²⁺ mobilization and release of acetylcholine from guinea pig neostriatal slices. *Br. J. Pharmac.* 91, 287-297.
- García de Yébenes J. y Mena Gómez M.A. (1988) The dopaminergic brain. En: *Parkinson's disease and movement disorders*, ed. J. Jankovic y E. Tolosa. (Urban & Schwarzenberg) Baltimore-Munich.
- Gluskin L.E., Strasberg B. y Shah J.H. (1981) Verapamil induced hyperprolactinemia and galactorrhea. *Ann. Intern. Med.* 95, 66-67.
- Godfraind T. (1985) Pharmacology of calcium antagonists. En: *Calcium and cell physiology*. ed. D. Marmé (Springer Verlag).
- Godfraind T., Morel N. y Wibo M. (1988) Tissue specificity of dihydropyridine type calcium antagonists in human isolated tissues. *TIPS* 9, 37-39.
- Godfraind T. y Govoni S. (1989) Increasing complexity revealed in regulation of Ca²⁺ antagonist receptor. *TIPS* 10, 298-301.
- Goldstein M. (1984) Regulatory mechanisms of dopamine biosynthesis at the tyrosine hydroxylase step. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 430, 1-5.
- Govoni S., Di Giovine S., Moresco R.M., Battaini F. y Trabucchi M. (1988a) Effect of chronic calcium antagonist treatment on dopamine recognition sites in rat striatum. *Neurosci. Lett.* 87, 173-177.
- Govoni S., Battaini F., Moresco R.M., Di Giovine S. y Gandolfi O. (1988b) Dopamine receptor subtype imbalance after chronic calcium antagonist treatment: a possible model of iatrogenic parkinsonism. *Int. Symp. Parkinsonism and Aging*.
- Grace A.A. y Bunney B.S. (1986) Induction of depolarization block in midbrain dopamine neurons by repeated administration of haloperidol: analysis using in vivo intracelular recording. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 238, 1092-1100.
- Graybiel A.M. (1990) Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *TINS* 13, 244-253.
- Grebb, J.A. (1986) Nifedipine and flunarizine block amphetamine induced behavioral stimulation in mice. *Life Sci.* 38, 2375-2381.

- Grebb J.A., Shelton R.C. y Freed W.J. (1987) Diltiazem or verapamil prevents haloperidol induced apomorphine supersensitivity in mice. *J. Neural Transm.* 68, 241-255.
- Greenberg, D.A. (1987) Calcium channels and calcium channel antagonists. *Ann Neurol.* 21, 317-330.
- Hakim R.M., Breillatt J., Lazarus J.M., y Port F.K. (1984) Complement activation and hypersensitivity reactions to dialysis membranes. *N.Engl.J.Med.* 311, 878-882.
- Hansson E. y Sellström A. (1983) MAO, COMT and GABA-T activities in primary astroglial cultures. *J. Neurochem.* 40, 220-225.
- Hansson E., Simonsson P. y Alling C. (1990) Interactions between cyclic AMP and inositol phosphate transduction systems in astrocytes in primary culture. *Neuropharmacol.* 29, 591-598.
- Herdon H. y Nahorsky S.R. (1989) Investigations of the roles of dihidropiridina y w -conotoxina sensible canales de calcio en mediar la despolarización evocada de liberación endógena de dopamina desde secciones de estriado. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 340, 36-40.
- Hernández L. y Hoebel B.G. (1989) Haloperidol dado crónicamente disminuye la dopamina basal en la corteza prefrontal más que el estriado o núcleo accumbens como se midió simultáneamente por microdialisis. *Brain Res. Bul.* 22, 763-769.
- Hess E.J. y Creese I. (1987) Biochemical characterization of dopamina receptores. En: *Dopamina receptores*, ed. I. Creese y C.M. Fraser. (Alan R. Liss, Inc.) New York.
- Heykans J. y Michiels M. (1976) Distribución de flunarizina- $[^3\text{H}]$ y sus metabolitos después de administración aguda y crónica en la ratona Wistar. Departamento de metabolismo, Janssen Pharmaceutica, Bélgica.
- Hirning L.D., Fox A.P., McCleskey E.W., Olivera B.M., Thayer S.A., Miller R.J. y Tsien R.W. (1988) Rol dominante de canales de Ca^{2+} de tipo N en la liberación evocada de norepinefrina desde neuronas simpáticas. *Science* 239, 57-61.
- Hong M., Jenner P. y Marsden C.D. (1987) Comparación de las acciones agudas de fármacos depletores de dopamina y antagonistas de receptores de dopamina sobre la función de dopamina en el cerebro de ratas. *Neuropharmacol.* 26, 237-245.
- Hosey M.M. y Lazdunski M. (1988) Canales de calcio: farmacología molecular, estructura y regulación. *J. Membrane Biol.* 104, 81-105.
- Hu X.T. y Wang R.Y. (1989) Haloperidol y clozapina: efectos diferenciales sobre la sensibilidad de neuronas caudato-putámicas a agonistas de dopamina y colecistocinina después de un mes de tratamiento continuo. *Brain Res.* 486, 325-333.
- Huang K.P. (1989) El mecanismo de activación de la proteína quinasa C. *TINS* 12, 425-432.
- Illes P. (1986) Mecanismos de modulación mediada por receptores de liberación de neurotransmisor en neuronas noradrenérgicas, colinérgicas y sensoriales. *Neurosci.* 17, 909-928.
- Imperato A. y Di Chiara G. (1984) Dialisis transtriatal acoplada a fase inversa de alto rendimiento de cromatografía líquida con detección electroquímica: un nuevo método para el estudio de la liberación *in vivo* de dopamina endógena y metabolitos. *J. Neurosci.* 4, 966-977.

- Imperato A. y Di Chiara G. (1985) Dopamine release and metabolism in awake rats after systemic neuroleptics as studied by trans-striatal dialysis. *J. Neurosci.* 5, 297-306.
- Janis R.A., Silver P.J. y Triggle D.J. (1987) Drug action and cellular calcium regulation. En: *Advances in drug research.* 16, 309-591.
- Jiang L.H., Tsai M. y Wang R.Y. (1988) Chronic treatment with high doses of haloperidol fails to decrease the time course for the development of depolarization inactivation of midbrain dopamine neurons. *Life Sci.* 43, 75-81.
- Joh T.H., Baetge E.E., Ross M.E. y Reis D.J. (1983) Evidence for the existence of homologous gene coding regions for the catecholamine biosynthetic enzymes. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 48, 327-335.
- Jones O.T., Kunze D.L. y Angelides K.J. (1989) Localization and mobility of w-conotoxin sensitive Ca^{2+} channels in hippocampal CA1 neurons. *Science* 244, 1189-1192.
- Kaakkola S., Männistö P.T. y Nissinen E. (1987) Striatal membrane bound and soluble catechol-O-methyl transferase after selective neuronal lesion in the rat. *J. Neural Transm.* 69, 221-228.
- Kapatos G. (1990) Tetrahydrobiopterin synthesis rate and turnover time in neuronal cultures from embryonic rat mesencephalon and hypothalamus. *J. Neurochem.* 55, 129-136.
- Kato T., Dong B., Ishii K. y Kinemuchi H. (1986) Brain dialysis: in vivo metabolism of dopamine and serotonin by monoamine oxidase A but not B in the striatum of unrestrained rats. *J. Neurochem.* 46, 1277-1282.
- Kennedy M. B. (1989) Regulation of neuronal function by calcium. *TINS* 12, 417-420.
- Kerr L.M., Filloux F., Olivera B.M., Jackson H., y Wamsley J.K. (1988) Autoradiographic localization of calcium channels with [^{125}I] w-conotoxina in rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* 146, 181-183.
- Knight D.E., Von Grafenstein H. y Athayde C.M. (1989) Calcium dependent and calcium independent exocytosis. *TINS* 12, 451-458.
- König J.F.R. y Klippel R.A. (1963) *The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem*, ed. Williams & Wilkins. Baltimore.
- Kostyuk P.G. (1989) Diversity of calcium ion channels in cellular membranes. *Neurosci.* 28, 253-261.
- Krueger B.K. (1990) Kinetics and block of dopamine uptake in synaptosomes from rat caudate nucleus. *J. Neurochem.* 55, 260-267.
- Lacey M.G., Mercury N.B. y North R.A. (1987) Dopamine acts on D_2 receptors to increase potassium conductance in neurones of the rat substantia nigra zona compacta. *J. Physiol.* 392, 397-416.

- Lane R.F., Blaha Ch.D. y Rivet J.M. (1988) Selective inhibition of mesolimbic dopamine release following chronic administration of clozapine: involvement of $\alpha 1$ noradrenergic receptors demonstrated by in vivo voltammetry. *Brain Res.* 460, 398-401.
- Laschinski G., Kittner B. y Bräutigam M. (1984) Inhibition of striatal tyrosine hydroxylase by low concentration of apomorphine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 327, 114-118.
- Lerma J., Herranz A.S., Herreras O., Abaira V., y Martin del Rio R. (1986) In vivo determination of extracellular concentration of amino acids in the rat hippocampus. A method based on brain dialysis and computerized analysis. *Brain Research* 384, 145-155.
- Lerner P., Nosé P., Gordon E.K. y Lovenberg W. (1977) Haloperidol: Effects of long-term treatment on rat striatal dopamine synthesis and turnover. *Science* 197, 181-183.
- Lewi P.J., Heykants J.J.P., Allewijn F.T.N., Dony J.G.H. y Janssen P.A.J. (1970) Distribution and metabolism of neuroleptic drugs. *Arzneim. Forsch. (Drug Res.)* 7, 943-948.
- Liang N.Y. y Rutledge Ch. (1982) Evidence for carrier mediated efflux of dopamine from corpus striatum. *Biochem. Pharmacol.* 31, 2479-2484.
- Lipscombe D., Kongsamut S. y Tsien R.W. (1989) α adrenergic inhibition of sympathetic neurotransmitter release mediated by modulation of N-type calcium channel gating. *Nature* 340, 639-642.
- Low M.G. y Saltiel A.R. (1988) Structural and functional roles of glycosylphosphatidylinositol in membranes. *Science* 239, 268-275.
- Maggi C.A., Tramontana M., Cecconi R. y Santicioli P. (1990) Neurochemical evidence for the involvement of N-type calcium channels in transmitter secretion from peripheral endings of sensory nerves in guinea pigs. *Neurosci. Lett.* 114, 203-206.
- Marsden C.A., Brazell M.P. y Maidment N.T. (1984) An introduction to in vivo electrochemistry. En: *Measurement of neurotransmitter release in vivo*, ed. Marsden C.A. (J. Wiley & Sons Ltd).
- Marti Massó J.F., Carrera N. y De la Puente E. (1985) Posible parkinsonismo por cinnarizina. *Med. Clin.(Barc.)* 85, 614.
- Marti Massó J.F., Obeso J.A., Carrera N. y Martinez Lage J.M. (1987) Aggravation of Parkinson's Disease by cinnarizine. *J. Neurol. Neurosurg. Psyq.* 50, 804.
- Martinez, A., J. Vitorica, E. Bogonez and J. Satrustegui, 1987, Differential effects of age on the pathways of calcium influx into nerve terminals, *Brain Res.* 435, 249-257.
- Marty A. (1989) The physiological role of calcium dependent channels. *TINS* 12, 420-424.
- Massieu L. y Tapia R. (1988) Relationship of dihydropyridine binding sites with calcium dependent neurotransmitter release in synaptosomes. *J. Neurochem.* 51, 1184-1189.

- McCormack J.G., Halestrap A.P. y Denton R.M. (1990) Role of calcium ions in regulation of mammalian intramitochondrial metabolism. *Physiol. Rev.* 70, 391-425.
- McGee R. y Schneider J.E. (1979) Inhibition of high affinity synaptosomal uptake systems by verapamil. *Mol. Pharmacol.* 16, 877-885.
- Means A.R., Lagace L., Simmen R.C.M. y Putkey J.A. (1985) Calmodulin gene structure and expression. En: *Calcium and cell physiology*. ed. D. Marmé (Springer Verlag).
- Mefford I.N., Roth K.A., Agren H. y Barchas J.D. (1988) Enhancement of dopamine metabolism in rat brain frontal cortex: a common effect of chronically administered antipsychotic drugs. *Brain Research* 475, 380-384.
- Meldolesi J., Volpe P. y Pozzan T. (1988) The intracellular distribution of calcium. *TINS* 11, 449-452.
- Memo M., Carboni E., Trabucchi M., Carrubia M.O. y Spano P.F. (1985) Dopamine inhibition of neurotensin induced increase in Ca^{2+} influx into rat pituitary cells. *Brain Res.* 347, 253-257.
- Mena M.A., Aguado E.G. y De Yebenes J.G. (1984) Monoamine metabolites in human cerebrospinal fluid. HPLC/EC method. *Acta Neurol. Scand.* 69, 218-225.
- Michaelis E.K. y Michaelis M.L. (1985) Effects of depressant drugs on sodium calcium exchange in resealed synaptic membranes. En: *Calcium in biological systems*, ed. Rubin R.P., Weiss G.B. y Putney J.W.Jr. (Plenum Press) New York.
- Michiels M., Hendriks R., Knaeps F., Woestenborghs R. y Heykants J. (1983) Absorption and tissue distribution of flunarizine in rats, pigs and dogs. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 33, 1135-1142.
- Miller R.J. (1987) Multiple calcium channels and neuronal function. *Science* 235, 46-52.
- Miller R.J. (1988) Calcium signalling in neurons. *TINS* 11, 415-419.
- Moghaddam B. y Bunney B.S. (1990) Acute effects of typical and atypical antipsychotic drugs on the release of dopamine from prefrontal cortex, nucleus accumbens, and striatum of the rat: an in vivo microdialysis study. *J. Neurochem.* 54, 1755-1760.
- Moolenaar W.H. y Spector I. (1979) The calcium current and the activation of a slow potassium conductance in voltage-clamped mouse neuroblastoma cells. *J. Physiol.* 292, 307-323.
- Moroni F. y Pepeu G. (1984) The cortical cup technique. En: *Measurement of neurotransmitter release in vivo*, ed. Marsden C.A. (J. Wiley & Sons Ltd).
- Nahorski S.R. (1988) Inositol polyphosphates and neuronal calcium homeostasis. *TINS* 11, 444-448.
- Nayler W.G. (1988) The calcium antagonist drugs. *Med. J. Australia.* 149, 682-686.
- Nicoll R.A., Malenka R.C. y Kauer J.A. (1990) Functional comparison of neurotransmitter receptor subtypes in mammalian central nervous system. *Physiol. Rev.* 70, 513-565.
- Nieuwenhuys R. (1985) *Chemoarchitecture of the brain.* (Springer Verlag).

- Nishizuka Y. (1988) The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation. *Nature* 334, 661-665.
- Nowycky M.C., Fox A.P y Tsien R.W. (1985) Three types of neuronal calcium channel with different calcium agonist sensitivity. *Nature* 316, 440-443.
- Okada M., Mine K. y Fujiwara M. (1990) Differential calcium dependence between the release of endogenous dopamine and noradrenaline from rat brain synaptosomes. *J. Neurochem.* 54, 1947-1952.
- Persechini A., Moncrief N.D. y Kretsinger R.H. (1989) The EF-hand family of calcium modulated proteins. *TINS* 12, 462-467.
- Philippu A. (1984) Use of push-pull cannulae to determine the release of endogenous neurotransmitters in distinct brain areas of anaesthetized and freely moving animals. En: *Measurement of neurotransmitter release in vivo*, ed. Marsden C.A. (J. Wiley & Sons Ltd).
- Pileblad, E. y Carlsson A. (1987) The Ca⁺⁺ antagonist nimodipine decreases and the Ca⁺⁺ agonist Bay K 8644 increases catecholamine synthesis in mouse brain. *Neuropharmacol.* 26, 101-105.
- Quirion R. (1985) Characterization of binding sites for two classes of calcium channel antagonists in human forebrain. *Eur. J. Pharmacol.* 117, 139-142.
- Rämsch K.D., Graefe K.H., Scherling D., Sommer J. y Ziegler R. (1986) Pharmacokinetics and metabolism of calcium blocking agents nifedipine, nitrendipine and nimodipine. *Am. J. Nephrol.* 6, (suppl 1), 73-80.
- Rasmussen, H., Zawalich W. y Kojima I. (1985a) Ca⁺⁺ and cAMP in the regulation of cell function. En: *Calcium and cell physiology*. ed. D. Marmé (Springer Verlag).
- Rasmussen H. (1985b) Calcium ion. A synarchic and mercurial but minatory messenger. En: *Calcium in biological systems*, ed. Rubin R.P., Weiss G.B. y Putney J.W.Jr. (Plenum Press) New York.
- Rasmussen C.D. y Means A.R. (1989) Calmodulin, cell growth and gene expression. *TINS* 12, 433-438.
- Reiriz J., Mena M.A., Bazán E., Muradás V., Lerma J., Delgado J.M.R. y De Yébenes J.G. (1989) Temporal profile of levels of monoamines and their metabolites in striata of rats implanted with dialysis tubes. *J. Neurochem.* 53, 789-792.
- Rezvani A.H., McManus K.T. y Myers R.D. (1986) Rate of in vivo verapamil exchange within the hypothalamus of the cat as examined by push-pull perfusion. *Neurochem. Res.* 11, 1643-1651.
- Riederer P. y Youdim M.B.H. (1986) Monoamine oxidase activity and monoamine metabolism in brains of parkinsonian patients treated with l-Deprenyl. *J. Neurochem.* 46, 1359-1365.
- Rivett A.J., Francis A. y Roth J.A. (1983) Localization of membrane bound catechol-O-methyltransferase. *J. Neurochem.* 40, 1494-1496.
- Rivier J., Galyean R., Gray W.R., Azimi-Zonooz A., McIntosh J.M., Cruz L.J. y Olivera B.M. (1987) Neuronal calcium channel inhibitors. Synthesis of w-conotoxin GVIA and effects on ⁴⁵Ca uptake by synaptosomes. *J. Biol. Chem.* 262, 1194-1198.

- Roufogalis B.D. (1985) Calmodulin antagonism. En: Calcium and cell physiology. ed. D. Marmé (Springer Verlag).
- Rubin R.P. (1985) Historical and biological aspects of calcium action. En: Calcium in biological systems, ed. Rubin R.P., Weiss G.B. y Putney J.W.Jr. (Plenum Press) New York.
- Sanna E., Head G.A. y Hanbauer I. (1986) Evidence for a selective localization of voltage-sensitive Ca^{2+} channels in nerve cell bodies of corpus striatum. *J. Neurochem.* 47, 1552-1557.
- Santiago M. y Westerink B.H.C. (1990) Role of adenylate cyclase in the modulation of the release of dopamine: a microdialysis study in the striatum of the rat. *J. Neurochem.* 55, 169-174.
- Sasaki K. y Sato M. (1987) A single GTP-binding protein regulates K^+ channels coupled with dopamine, histamine and acetylcholine receptors. *Nature* 325, 259-262.
- Scatton, B., Garret C. y Julou L. (1975) Acute and subacute effects of neuroleptics on dopamine synthesis and release in the rat striatum. *Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.* 291, 419-434.
- Schatzmann H.J. (1985) Calcium extrusion across the plasma membrane by the calcium pump and the Ca^{2+} - Na^+ exchange system. En: Calcium and cell physiology, ed. D. Marmé (Springer Verlag).
- Schlondorff D. y Satriano J. (1985) Interactions with calmodulin: potential mechanism for some inhibitory actions of tetracyclines and calcium channel blockers. *Biochem. Pharmacol.* 34, 3391-3393.
- Schwartz J.H. (1985a) Chemical messengers: small molecules and peptides. En: Principles of neural science, ed. E.R. Kandel y J.H. Schwartz. (Elsevier)
- Schwartz J.H. (1985b) Molecular aspects of postsynaptic receptors. En: Principles of neural science, ed. E.R. Kandel y J.H. Schwartz. (Elsevier)
- Sharp T., Zetterström T. y Ungerstedt U. (1986) An in vivo study of dopamine release and metabolism in rat brain regions using intracerebral dialysis. *J. Neurochem.* 47, 113-122.
- Shoepf, D.D. y Azzaro A.J. (1982) Role of type A and type B monoamine oxidase in the metabolism of released 3H dopamine from rat striatal slices. *Biochem. Pharmacol.* 31, 2961.
- Silinsky E.M. (1985) Calcium and transmitter release. En: Calcium in biological systems, ed. Rubin R.P., Weiss G.B. y Putney J.W.Jr. (Plenum Press) New York.
- Skarsfeldt T. (1988) Effect of chronic treatment with SCH 23390 and haloperidol on spontaneous activity of dopamine neurons in substantia nigra pars compacta (SNc) and ventral tegmental area (VTA) in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 145, 239-243.
- Smith S.J. y Augustine G.J. (1988) Calcium ions, active zones and synaptic transmitter release. *TINS* 11, 458-464.
- Snyder S.H. y Reynolds I.J. (1985) Calcium-antagonist drugs. Receptor interactions that clarify therapeutic effects. *N. Eng. J. Med.* 313, 995-1002.

- Starke, K., Spath L. y Wichman T. (1984) Effects of verapamil, diltiazem and ryosidine on the release of dopamine and acetylcholine in rabbit caudate nucleus slices. *Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.* 325, 124-130.
- Stenström A., Hardy J. y Oreland L. (1987) Intra and extra dopamine synaptosomal localization of monoamine oxidase in striatal homogenates from four species. *Biochem. Pharmacol.* 36, 2931-2935.
- Sternweis P.C. y Pang I.H. (1990) The G protein-channel connection. *TINS* 13, 122-126.
- Sutoo D., Akiyama K. y Geffard M. (1988) Central dopamine synthesis regulation by the calcium-calmodulin-dependent system. *Brain Res. Bull.* 22, 565-569.
- Taylor C.W. (1990) Receptor regulated Ca^{2+} entry: secret pathway or secret messenger? *TIPS* 11, 269-271.
- Tecott L.H., Kwong L.L., Uhr S. y Peroutka S.J. (1986) Differential modulation of dopamine D_2 receptors by chronic haloperidol, nitrendipine and pimozide. *Biol. Psychiatry* 21, 1114-1122.
- Tedroff J., Aquilonius S.M., Hartvig P., Lundqvist H., Gee A.G., Uhlin J. y Långström B. (1988) Monoamine reuptake sites in the human brain evaluated in vivo by means of ^{11}C -nomifensine and positron emission tomography: the effects of age and Parkinson's disease. *Acta. Neurol. Scand.* 77, 192-201.
- Tsien R.W., Lipscombe D., Madison D.V., Bley K.R. y Fox A.P. (1988) Multiple types of neuronal calcium channels and their selective modulation. *TINS* 11, 431-438.
- Umekawa H., Yamakawa K., Nunoki K., Taira N., Tanaka T. y Hidaka H. (1988) Inhibition of calmodulin function by CV 159, a novel dihydropyridine compound. *Biochem. Pharmacol.* 37, 3377-3381.
- Ungerstedt U. (1984) Measurement of neurotransmitter release by intracranial dialysis. En: *Measurement of neurotransmitter release in vivo*, ed. Marsden C.A. (J. Wiley & Sons Ltd).
- Van Eldik L.J. y Watterson D.M. (1985) Calmodulin structure and function. En: *Calcium and cell physiology*, ed. D. Marmé (Springer Verlag).
- Vandaele S., Fosset M., Galizzi J.P. y Lazdunski M. (1987) Monoclonal antibodies that coimmunoprecipitate the 1,4 dihydropyridine and phenylalkylamine receptors and reveal the calcium channel structure. *Biochemistry* 26, 5-9.
- Vallar L. y Meldolesi J. (1989) Mechanisms of signal transduction at the dopamine D_2 receptor. *TIPS* 10, 74-77.
- Verage M., Besselsen E., Lopes Da Silva F.H. y Ghijsen W.E.J.M. (1989) Ca^{2+} dependent regulation of presynaptic stimulus secretion coupling. *J. Neurochem.* 53, 1188-1194.
- Verma A.K., Filoteo A.G., Stanford D.R., Wieben E.D. y Penniston J.T. (1988) Complete primary structure of a human plasma membrane Ca^{2+} pump. *J. Biol. Chem.* 263, 14152-14159.
- Walaas S.I. y Nairn A.C. (1985) Calcium-regulated protein phosphorylation in mammalian brain. En: *Calcium and cell physiology*, ed. D. Marmé (Springer Verlag).

- Walaas S.I., Sedvall G. y Greengard P. (1989) Dopamine regulated phosphorylation of synaptic vesicle associated proteins in rat neostriatum and substantia nigra. *Neurosci.* 29, 9-19.
- Watanabe, H. (1987) Differential decrease in the rate of dopamine synthesis in several dopaminergic neurons of aged rat brain. *Exp. Gerontol.* 22, 17.
- Wazer D.E., Rotrosen J. y Stanley M. (1982) The benzamides: Evidence for action at dopamine receptors—Shotcomings of current models. En: *The benzamides: Pharmacology, Neurobiology and clinical aspects*, ed. J. Rotrosen y M. Stanley (Raven Press, New York).
- Westerink B.H.C. y Tuinte M.H.J. (1986) Chronic use of intracerebral dialysis for the in vivo measurement of 3,4-dihydroxyphenylethylamine and its metabolite 3,4-dihydroxyphenylacetic acid. *J. Neurochem.* 46, 181-185.
- Westerink B.H.C., Tuntler J., Damsma G., Rollema H. y De Vries J.B. (1987a) The use of tetrodotoxin for the characterization of drug enhanced dopamine release in conscious rats studied by brain dialysis. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 336, 502-507.
- Westerink B.H.C., Damsa G., Rollema H., De Vries J.B. y Horn A.S. (1987b) Scope and limitations of in vivo brain dialysis: a comparison of its application to various neurotransmitter systems. *Life Sci.* 41, 1763-1776.
- Westerink B.H.C. y De Vries J.B. (1989a) On the mechanism of neuroleptic induced increase in striatal dopamine release: brain dialysis provides direct evidence for mediation by autoreceptors localized on nerve terminals. *Neurosci. Lett.* 99, 197-202.
- Westerink B.H.C., Hofsteede R.M., Tuntler J. y De Vries J.B. (1989b) Use of calcium antagonism for the characterization of drug evoked dopamine release from the brain of conscious rats determined by microdialysis. *J. Neurochem.* 52, 722-729.
- White F.J. y Wang R.Y. (1983) Comparison of the effects of chronic haloperidol treatment on A9 and A10 dopamine neurons in the rat. *Life Sci.* 32, 983-993.
- Winkler M.A., DeWitt L.M. y Cheung W.Y. (1987) Calmodulin and calcium channel blockers. *Hypertension* 9, 217-223.
- Woodward J.J., Chandler L.J. y Leslie S.W. (1988) Calcium dependent and independent release of endogenous dopamine from rat striatal synaptosomes. *Brain Res.* 473, 91-98.
- Xiang J.Z., Morton J., Brammer M.J. y Campbell I.C. (1990) Regulation of calcium concentrations in synaptosomes: α_2 adrenoceptors reduce free Ca^{2+} by closure of N-type Ca^{2+} channels. *J. Neurochem.* 55, 303-310.
- Zetterström T., Vernet L., Ungerstedt U., Tossman U., Jonzon B., y Fredholm B.B. (1982) Purine levels in the intact brain. Studies with an implanted perfused hollow fibre. *Neurosci. Lett.* 29, 111-115.
- Zetterström T., Sharp T., Marsden C.A., y Ungerstedt U. (1983) In vivo measurement of dopamine and its metabolites by intracerebral dialysis: changes after d-amphetamine. *J. Neurochem.* 41, 1769-1773.

Zetterström T. y Ungerstedt U. (1984) Effects of apomorphine on the in vivo release of dopamine and its metabolites studied by brain dialysis. *Eur. J. Pharmacol.* 97, 29-36.

Zetterström T., Sharp T. y Ungerstedt U. (1985) Effects of neuroleptic drugs on striatal dopamine release and metabolism in the awake rat studied by intracerebral dialysis. *Eur. J. Pharmacol.* 106, 27.

Zetterström T., Sharp T. y Ungerstedt U. (1986) Effect of dopamine D₁ and D₂ receptor selective drugs on dopamine release and metabolism in rat striatum in vivo. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 334, 117-

Zetterström T., Sharp T., Collin A.K. y Ungerstedt U. (1988) In vivo measurement of extracellular dopamine and DOPAC in rat striatum after various dopamine releasing drugs: implications for the origin of extracellular DOPAC. *Eur. J. Pharmacol.* 148, 327-334.

Zhang W., Tilson H., Stachowiak M.K. y Hong J.S. (1989) Repeated haloperidol administration changes basal release of striatal dopamine and subsequent response to haloperidol challenge. *Brain Res.* 484, 389-392.

Zivkovic, B. y Guidotti A. (1974) Changes in kinetic constant of striatal tyrosine hydroxylase elicited by neuroleptics that impair the function of dopamine receptors. *Brain Res.* 79, 505-509.

