poral) paroxysmal foci: A clinical entity. Study of 221 cases. Epilepsia 1972; 13: 795-811.

- 6. Gastaut H. A new type of epilepsy: Benign partial epilepsy of childhood with occipital spike-waves. Clin Electroencephalogr 1982; 13: 13-22.
- 7. Dalla Bernardina B, Bureau M, Dravet Ch, Dulac O, Tassinari CA, Roger J. Épilepsie bénigne de l'enfant avec crises à sémiologie affective. Rev EEG Neurophysiol 1980; 10: 8-18.
- 8. De Marco P. Evoked parietal spikes and childhood epilepsy. Arch Neurol 1980; 37: 291-2.
- 9. Beaumanoir A, Nahory A. Les épilepsies bénignes partielles: 11 cas d'épilepsie partielle frontale à évolution favorable. Rev EEG Neurophysiol 1983; 13: 207-11.
- 10. Aicardi J, Chevrie JJ. Atypical benign epilepsy of childhood. Dev Med Child Neurol 1982; 24: 281-92.
- Deonna T, Ziegler AL, Despland PA. Combined myoclonic-astatic and 'benign' focal epilepsy of childhood ('atypical benign partial epilepsy of childhood'). A separate syndrome? Neuropediatrics 1986; 17: 144-51.
 Doose H, Baier W, Reinsberg E. Genetic heterogeneity of spike-wave
- Doose H, Baier W, Reinsberg E. Genetic heterogeneity of spike-wave epilepsies. In Advances in Epileptology. XVth International Symposium. New York: Raven Press; 1984. p. 513-9.
- Aicardi J, Chevrie JJ. Myoclonic epilepsies of childhood. Neuropädiatrie 1971; 3: 177-90.
- Markland ON. Slow spike-wave activity in EEG and associated clinical features: Often called 'Lennox' or 'Lennox-Gastaut syndrome'. Neurology 1977; 27: 746-57.
- Beaumanoir A, Ballis T, Barfis D, Ausari K. Benign epilepsy of childhood with Rolandic spikes. A clinical, electroencephalografic and telecephalographic study. Epilepsia 1974; 16: 301-15.
- Morikawa T, Osawa T, Śeino M. Six children with combined attacks of Sylvian and absence seizures: A nosological contribution to benign epilepsy of children with centrotemporal EEG foci. Brain Dev 1980; 2: 262 (abstract).
- Patry G, Lyagouby S, Tassinari CA. Subclinical 'Electrical Status Epilepticus' induced by sleep in children. Arch Neurol 1971; 24: 242-52.
- 18. Dalla Bernardina B, Tassinari CA, Bureau M, Beghini G, Roger J.

Épilepsie partielle et état de mal électroencéphalographique pendant le sommeil. Rev EEG Neurophysiol 1978; 8: 350-3.

- Tassinari CA, Bureau M, Dravet Ch, Roger J, Daniele-Natale O. Electrical status epilepticus during sleep in children (ESES). In Sterman MB, Shouse MN, Passouant P, eds. Sleep and epilepsy. London: Academic Press; 1982.
- Billard C, Autret A, Laffont F, Lucas B, Degiovanni E. Electrical status during sleep in children: A reappraisal from eight new cases. In Sterman MB, Shouse MN, Passouant P, eds. Sleep and epilepsy. London: Academic Press; 1982.
- Aicardi J. Epilepsy in children. International review of child neurology series. 2 ed. New York: Raven Press; 1994.
- 22. Aicardi J. Epilepsy in children. New York: Raven Press; 1986.
- 23. Aicardi J, Gomes AL. Clinical and EEG symptomatology of the 'genuine' Lennox-Gastaut syndrome and its differentiation from other forms of epilepsy of early childhood. In Degen R, ed. The benign localized and generalized epilepsies of early childhood. Amsterdam: Elsevier; 1991. p. 185-93.
- Wang PJ, Omori K, Utsumi H, Izumi T, Yajima K, Fukuyama Y. Partial inhibitory seizures: A report on two cases. Brain Dev 1984; 6: 553-9.
- Dalla Bernardina B, Fontana E, Sgrò V, Caraballo R, Zullini E, Simeoni M, et al. Generalized or partial atonic seizures – inhibitory seizures– in children with partial epilepsies. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1990; 75 (Suppl): S31-2.
- Cirignotta F, Lugaresi E. Partial motor epilepsy with 'negative myoclonus'. Epilepsia 1991; 32: 54-8.
- Kanakawa O, Kawai Y. Status epilepticus characterized by repetitive asymmetrical atonia: Two cases accompanied by partial seizures. Epilepsia 1990; 31: 536-43.
- Carabello R, Fontana E, Michelizza B, Zullini B, Sgrò V, Pajno Ferrara F, et al. Carbamazepina, 'assenzeatipiche', 'crisi atoniche' e stato di PO continuo del sonno (POCS). Boll Lega It Epil 1989; 66/67: 379-81.
- Roger J, Bureau M, Genton P, Dravet Ch. Idiopathic partial epilepsies. In Dam M, Gram L, eds. Comprehensive epileptology. New York: Raven Press; 1990. p. 155-70.

Expresión genética del factor de crecimiento neural en el sistema nervioso central. Evaluación en un modelo experimental de demencia de Alzheimer

M. González-Hoyuela, J. Soto, R. García-Milian, R. Ubieta, L. Francis, R. Conde-Vázquez

Resumen. Introducción y objetivo. Varios autores han sugerido que la pérdida de un soporte trófico neuronal puede ser un elemento importante en la fisiopatología de enfermedades degenerativas del sistema nervioso como la demencia de Alzheimer, el Parkinson o la esclerosis lateral amiotrófica, entre otras. A la luz de los conocimientos actuales, la supervivencia de poblaciones colinérgicas del cerebro basal anterior, íntimamente relacionadas con procesos cognitivos de memoria y aprendizaje, está asociada a una función adecuada del factor de crecimiento neural (FCN). Estas poblaciones sufren un deterioro importante en la enfermedad de Alzheimer, que ha sido correlacionado con la progresiva pérdida de memoria y afectación intelectual presente en esta enfermedad. El modelo utilizado en este trabajo se basa en la sección de las vías de conexión septohipocampales, con lo cual se interrumpe el transporte de señales regulatorias del hipocampo al septum medial; esto trae consecuencias letales sobre las neuronas colinérgicas de este último. Hemos desarrollado un estudio dirigido a caracterizar la expresión del gen de FCN en diferentes regiones cerebrales implicadas en la neurotransmisión colinérgica en el tejido sano y en el lesionado. Material y métodos. Fue utilizada una técnica de hibridación molecular con sonda de ADNc complementaria al gen de FCN humano marcada radioisotópicamente. Resultados y conclusiones. Se encontraron los mayores niveles de expresión en el hipocampo y la corteza sana. La disminución en los niveles de ARNm de FCN en el hipocampo lesionado apoya la tesis actual de considerar la actividad sináptica como una importante reguladora de la síntesis de esta molécula en el cerebro [REV NEUROL 1998; 26: 204-7]. **Palabras clave.** Alzheimer, Factor de crecimiento neural. Factores neurotróficos. Hibridación. Sistema colinérgico.

GENETIC EXPRESSION OF THE NEURAL GROWTH FACTOR IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM. EVALUATION OF AN EXPERIMENTAL MODEL OF ALZHEIMER'S DEMENTIA

Summary. Introduction and objective. Several authors have suggested that loss of neuronal trophic support may be an important

Recibido: 26.08.97. Recibido en versión revisada: 25.09.97. Aceptado: 12.10.97. Departamento de Biología Molecular. Centro Internacional de Restauración Neurológica (CIREN). Ciudad de La Habana, Cuba.

 $Correspondencia: Dra.\,Maritza\,Gonz\'alez-Hoyuela\,Alonso.\,Departamento$

de Biología Molecular. Centro Internacional de Restauración Neurológica (CIREN). Ave 25 No. 15805. CP 11300 Playa. Ciudad de La Habana, Cuba. Fax: (53-7)33-24-20, 33-60-20, 33-63-39. E-mail: cineuro@neuro.sld.cu.

© 1998, REVISTA DE NEUROLOGÍA

element in the physiopathology of degenerative conditions of the central nervous system such as Alzheimer's dementia, Parkinson's disease or amyotrophic lateral sclerosis amongst others. In the light of present knowledge, the survival of cholinergic populations of the anterior basal cerebrum, closely involved with cognitive processes of memory and learning, is associated with adequate function of the neural growth factor (NGF). These populations are markedly damaged in Alzheimer's disease, and this has been correlated with the progressive loss of memory and intellectual involvement seen in this disorder. The model used in this study was based on section of the septohippocampal connecting pathways, so that transport of regulatory impulses from the hippocampus to the medial septum was interrupted. This has lethal results for the cholinergic neurons of the latter. We have developed a study designed to characterize the expression of the gene of NGF in different regions of the brain, involved in cholinergic neurotransmission in healthy and in damaged tissue. Material and methods. We used a molecular hybridization technique with a cDNA catheter complementary to the radio-isotope marked NGF human gene. Results and conclusions. The highest levels of expression were found in the healthy cortex and hippocampus. The reduction in the levels of mRNA of NGF in the damaged hippocampus supports the current thesis which considers synaptic activity to be a major regulator of the synthesis of this molecule in the brain [REV NEUROL 1998; 26: 204-7].

Key words. Alzheimer. Cholinergic system. Hybridization. Neural growth factor. Neurotrophic factors.

INTRODUCCIÓN

La existencia de sustancias con acciones neurotróficas fue enunciada por Ramón y Cajal desde principios de siglo, definiéndolas como aquellas moléculas extracelulares capaces de estimular el metabolismo y de esta forma garantizar la supervivencia, el desarrollo morfológico y la diferenciación fisiológica de células nerviosas [1]. Este concepto se haido ampliando en las épocas actuales y se han establecido relaciones directas entre estas proteínas neurotróficas y procesos de desarrollo, degeneración y regeneración del sistema nervioso. El factor neurotrófico más conocido es el factor de crecimiento neural (FCN) descubierto gracias a los trabajos de Rita Levi Montalcini en la década de los 50 [2]. Esta moléculaes indispensable parael desarrollo y mantenimiento de neuronas ganglionares sensoriales y simpáticas del sistema nervioso periférico y para neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior [3-7].

En 1981 Apple planteó la hipótesis general según la cual la ausencia de factores neurotróficos sería responsable de la degeneración neuronal selectiva en enfermedades como el Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica y la enfermedad de Alzheimer [8]. Esta última se caracteriza por una afectación importante del sistema colinérgico del cerebro basal anterior, cuya intensidad se correlaciona con la gravedad de la demencia.

Es conocido que el FCN y su ARNm disminuyen progresivamente con la edad en la rata y en los humanos, principalmente en áreas con predominio colinérgico del sistema nervioso central [9,10]. En animales viejos o con lesiones de las rutas colinérgicas, el FCN administrado exógenamente es capaz de prevenir la pérdida neuronal inducida por la lesión, así como de atenuar los déficits conductuales provocados por estas lesiones experimentales [11-13].

Teniendo en cuenta estos antecedentes desarrollamos un estudio dirigido a caracterizar la expresión del gen de FCN en regiones cerebrales involucradas en la neurotransmisión colinérgica, tanto en animales sanos como con una disfunción colinérgica regionalmente representativa de lo que acontece en la enfermedad de Alzheimer.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos experimentales

Para la realización del experimento utilizamos ratas machos jóvenes (200-250 g) de la línea Sprague Dawley mantenidas bajo condiciones estándar de laboratorio, ciclo de luz-oscuridad 12 x 12 h, temperatura 22-24 °C, humedad 70-78%, con libre acceso al agua y a la comida.

Se agruparon en ratas no lesionadas, n=6 y ratas con lesión de la vía septohipocampal fimbria fornix n=6. El criterio de selección de estas últimas se llevó a cabo a través de una evaluación conductual en el laberinto acuático

de Morris una semana posterior a la lesión, cuyos resultados mostraron un deterioro significativo de los procesos de aprendizaje y memoria espacial tal como se informa para esta prueba.

El tejido cerebral se obtuvo después de decapitar al animal y disecar las regiones del hipocampo, septum, estriado y corteza total. Las estructuras se agruparon hasta obtener 100 mg de tejido húmedo y fueron procesadas inmediatamente.

Modelo experimental empleado

Se usó el modelo de lesión bilateral de la vía septohipocampal (fimbria fornix). Para la inducción de la lesión se utilizó el método de aspiración. Los animales fueron anestesiados utilizando hidrato de cloral al 7% (0,6 ml x 100 g de peso). La lesión se realizó utilizando un sistema estereotáxico para localizar el punto AP= 1,3 mm posterior a Bregma. Se aspiró la corteza cingulada, cuerpo calloso, comisura hipocampal ventral, la fimbria y el fornix con ayuda de un microscopio quirúrgico.

Metodología empleada

Se empleó una técnica de hibridación de ácidos nucleicos, modalidad Northern Blot. La extracción del ARN total se realizó siguiendo el método descrito por Chomczynsky y Sachi [14]. Las concentraciones de ARNt siempre fueron de 25 µg. La hibridación y los lavados se realizaron con alta astringencia. La sonda molecular usada en la hibridación fue un segmento de 300 nucleótidos obtenido por técnicas de reacción en cadena de la polimerasa a partir de ADN cromosomal humano, el cual comparte una gran homología con el de roedores [15]. La sonda se marcó con dATP³² según el método de iniciación aleatoria propuesto por Fienberg y Volgestein [16]. La medición de la radiactividad se realizó en un contador de centelleo para radiaciones beta cuya actividad específica arrojó un resultado entre 5 x 10⁸ y 1 x 10⁹ cpm/µg de ADN de sonda. La detección de la señal fue realizada por autorradiografía y el análisis fue realizado a través de un paquete informático para comparación de señales autorradiográficas (ANABLOT) desarrollado por el Instituto de Investigaciones Digitales de Cuba (ICID). Los resultados se expresaron como porcentaje del control normal de comparación.

RESULTADOS

Diferencias regionales en el contenido de ARNm para el FCN en el cerebro normal

Como se puede observar en las figuras 1 y 2, cuando se comparan los niveles de ARNm para el FCN en las diferentes regiones cerebrales estudiadas se detectan los niveles mayores de expresión en la región del hipocampo. La expresión del ARNm de FCN en la corteza constituye un 64,8%, en el septum un 53,1% y en el estriado un 49,9% con respecto al hipocampo (Fig. 2). Estos datos concuerdan con lo comunicado por varios autores, concerniente a que los lugares de mayor síntesis para el FCN se correlacionan con los tejidos blanco de inervación, para las células colinérgicas del cerebro basal anterior, como son: hipocampo y corteza [17-19].

M. GONZÁLEZ-HOYUELA, ET AL



Figura 1. Expresión del ARNm del FCN en regiones normales del sistema nervioso central. Los resultados son expresados como porcentaje ± DSM del ARNm de las diferentes regiones cerebrales respecto al hipocampo.



Figura 3. Expresión del ARNm del FCN en diferentes regiones cerebrales después de una lesión de las vías septohipocampales fimbria fornix. Los resultados son expresados como porcentaje ± DSM de ARNm del FCN de las diferentes regiones del modelo de lesión fimbria fornix (ff) con respecto a las regiones normales.

Nuestro hallazgo, de bajos niveles de expresión para el FCN en el septum, sumado a lo comunicado acerca de la dependencia vital de las neuronas colinérgicas del septum medial del FCN hipocampal, hablan a favor de la existencia de mecanismos de regulación paracrinomás que autocrino. La síntesis local septal al parecer no es suficiente para asegurar la supervivencia y el buen fucionamiento celular de esta región.

Las concentraciones más bajas fueron encontradas en el estriado. Esta región está constituida por un circuito local de interneuronas, cuya sensibilidad al FCN declina con el desarrollo posnatal [20], de ahí que sea explicable que en el cerebro adulto normal se exprese en cantidades mínimas el FCN en esta región.

Expresión del ARNm para el FCN en el cerebro, después de una lesión bilateral de las vías septohipocampales fimbria fornix

El estudio de la expresión génica para el FCN en las cuatro áreas estudiadas revela que el hipocampo es la región de mayor afectación una vez que se destruyen las terminales axonales de la vía septohipocampal fimbria fornix (Figs. 3 y 4).

En el modelo animal empleado se muestra una disminución



Figura 2. Autorradiograma donde se muestran los niveles de expresión de ARNm para el FCN en el sistema nervioso central sano. (De izquierda a derecha las regiones: corteza, septum, hipocampo y estriado).



Figura 4. Autorradiograma donde se muestran los niveles de expresión de ARNm para el FCN en las regiones del septum e hipocampo en el modelo de lesión. (De izquierda a derecha las regiones: septum normal, septum lesionado, hipocampo normal e hipocampo lesionado).

del 48% en el nivel de ARNm para FCN a las dos semanas de producida la lesión en el hipocampo. Por otra parte, el septum y el estriado muestran una disminución de 11,9 y 12,5%, respectivamente, en relación con los controles normales. La corteza sólo exhibió un ligero aumento del 5% en relación con el control sano (Fig. 3).

DISCUSIÓN

En el sistema nervioso central el FCN es predominantemente sintetizado en células neuronales [18,19]. La regulación de la síntesis in vivo de estos factores neurotróficos es aún poco conocida. Existen diferentes estudios en la literatura que evidencian la existencia de un control de la expresión de estas moléculas a través de los contactos sinápticos y la neurotransmisión sobre sus células blanco.

Desde finales de la década de los 80 se comenzó a observar que en el sistema nervioso periférico la síntesis del FCN in vivo podía estar regulada por el entorno neuronal y la neurotransmisión adrenérgica [21,22]. Más adelante se observó que los cambios eléctricos en las membranas celulares de cultivos de hipocampo conducían a un aumento del ARNm para el FCN y el BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Factor*), otrofactorneurotróficomuyrelacionado estructural y funcionalmente con el FCN [23,25]. Estos mismos autores indicaban que pequeños cambios en el balance entre los sistemas glutamatérgico (excitatorio) y GABAérgico (inhibitorio) en el hipocampo, incrementaban significativamente la expresión del ARNm para el FCN e influían en la cantidad disponible de FCN para las neuronas colinérgicas septales. Esto demuestra que una activación de las vías excitatorias glutamatérgicas o un bloqueo de las vías de inhibición GABAérgicas hipo-campales conduce a un aumento de la expresión del gen del FCN y del BDNF, mientras que la estimulación de receptores GA-BAérgicos reprime su síntesis.

En relación con la neurotransmisión colinérgica, el grupo de Angelucci, al usar acetil-L-carnitina, un cofactor metabólico parala síntesis de acetilcolina, provocaba aumentos de acetilcolina y de FCN hipocampal [26]. Se ha planteado la posibilidad de que un incremento de la actividad colinérgica conduzca a una actividad elevada glutamatérgica dentro del hipocampo y ésta searesponsable de la regulación de estos factores neurotróficos [25]. La tendencia a la disminución de los valores de ARNm para el FCN en la región del hipocampo lesionado puede ser explicada a partir de las consideraciones anteriores, como resultado de la pérdida de los contactos y la actividad sináptica septohipocampal, que imposibilita la llegada de señales informativas procedentes del septum, de importancia regulatoria para la transcripción del gen de FCN.

Por otra parte, es interesante notar que a las dos semanas de producida la lesión es cuando se observa el valor máximo en los niveles de concentración de la proteína FCN en este modelo animal. Sin embargo, esta elevación del nivel de proteína no necesariamente indica un incremento de la transcripción genética en estas células, sino que es una expresión directa de la acumulación del FCN, al interrumpirse su vía de transporte desde las células hipocampales hasta las neuronas septales [27]. La propiaacumulación de la proteína FCN en esta zonapudiera, por ese motivo, acrecentar el efecto inhibitorio de la síntesis encontrada en esta región a través de mecanismos genéticos de regulación negativa.

La tendencia del ARNm para el FCN a disminuir en un 11,9% en el septum del modelo de lesión, la atribuimos a la atrofia y muerte neuronal ya instalada a las dos semanas de producida la lesión en esta región. El comportamiento similar al anterior en la región del estriado, donde los valores tienden a disminuir en un 12,5%, podría deberse también a un efecto de muerte neuronal limitada en esta región.

El posible fallo de soporte trófico mediado por el FCN y factores relacionados, en las enfermedades neurodegenerativas, es un tópico abordado por muchos investigadores [8,28]. Las disminuciones de los niveles de FCN mostradas en diversos modelos de la enfermedad de Alzheimer han hecho pensar en las potencialidades de este factor como agente terapéutico futuro. Sin embargo, el fallo de la acción de posibles moléculas inductoras, procedentes de las terminales neuronales, sobre sus células blanco pudiera constituir una etapa más temprana en el desarrollo del déficit de FCN en el sistema nervioso central y un punto de acción terapéutica más eficiente.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Ramón y Cajal S. Degeneration and regeneration of the nervous system. In May RM, ed. New York: Hafner; 1959.
- Levi Montalcini R, Angeletti P. Nerve growth factor. Physiol Rev 1968; 48: 534-69.
- Korsching S, Thoenen H. NGF in sympathetic ganglia and corresponding target organs of the rat: Correlation with density of sympathetic innervation. Natl Acad Sci USA 1983; 80: 3513-6.
- Greene LA, Shooter EM. The nerve growth factor: Biochemistry, synthesis and mechanism of action. Ann Rev Neurosci 1980; 3353-402.
- Thoenen H, Bandtlow C, Heumann R. The physiological function of nerve growth factor in the central nervous system: Comparison with the periphery. Rev Physiol Biochem Pharmacol 1987; 109: 145-78.
- 6. Thoenen H, Barde YA. Physiology of nerve growth factor. Physiol Rev 1980; 60: 1284-335.
- 7. Korsching S. The role of nerve growth factor in the CNS. TINS 1987; 12: 570-3.
- Appel S H. A unifying hypothesis for the cause of amyotrophic lateral sclerosis, parkinsonism and Alzheimer's disease. Ann Neurol 1981; 10: 499-505.
- 9. Larkfors L, Ebendal T, Whittemore SR, et al. Decreased level of nerve growth factor and its messenger RNA in the aged rat brain. Mol Brain Res 1987; 3: 55-60.
- Larkfors L, Ebendal T, Whittemore SR, et al. Developmental appearance of nerve growth factor in the rat brain: Significant deficit in the aged forebrain. Prog Brain Res 1988; 78: 27-31.
- Fischer W, Wictorin K, Bjorklund A, et al. Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. Nature 1987; 329: 65-8.
- Hefti F. NGF promotes survival of septal cholinergic neurons after fimbrial transection. J Neurosci 1986; 6: 2155-62.
- Williams LR, Varon S, Peterson GM, et al. Continuous infusion of NGF prevents basal forebrain neuronal death after fimbria fornix transection. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83: 9231-5.
- Chomczynsky P, Sachi N. Single-Step method of RNA isolation by Acid Guanidinium Thiocyanate-Phenol-Chloroform Extraction. Anal Biochem 1987; 162: 156-9.
- Ullrich A, Gray A, Berman C, Dull T. Human nerve growth factor gene sequence highly homologous to the mouse. Nature 1983; 303: 821-5.

- Fienberg AP, Volgestein B. A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. Anal Biochem 1983; 132: 6-13.
- 17. Korsching S, Auburger G, Heumann R, Scott J, Thoenen H. Levels of nerve growth factor and its mRNA in the central nervous system of the rat correlate with cholinergic innervation. EMBO J 1985; 4: 1389-93.
- Ayer Le Lievre C, Olson L, Ebendal T, et al. Expression of the nerve growth factor in hippocampal neurons. Science 1988; 240: 1339-41.
- Whittemore SR, Friedman PL, Larhammer D, Persson H. Rat nerve growth factor sequence and the site of synthesis in the adult hippocampus. J Neurosci Res 1988; 20: 403-10.
 Martínez H, Dreyfus CE, Jonakait CM, et al. NGF promotes cholin-
- Martínez H, Dreyfus CE, Jonakait CM, et al. NGF promotes cholinergic development in brain striatal cultures. Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82: 7777-81.
- Hellweg A. NGF synthesis in cultured rat iris, modulation by endogenous transmitter substances. Exp Cell Res 1988; 179: 18-30.
- Forukawa S, Forukawa Y. NGF synthesis and its regulatory mechanism: An approach in therapeutic induction of NGF synthesis. Cerebrovasc Brain Met Rev 1990; 2: 328-44.
- Zafra F, Hengerer B, Leibrock J, et al. Activity-dependent regulation of BDNF and NGF mRNA in the rat hippocampus is mediated by non-NMDA glutamate receptor. EMBO J 1990; 9: 3545-50.
- 24. Zafra S, Castren E, Thoenen H, Lindholm D. Interplay between glutamate and GABA transmitter system in the physiological regulation of BDNF and NGF synthesis in hippocampal neurons. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 10037-41.
- Zafra S, Lindholm D, Castren E, Hartikka J, Thoenen H. Regulation of BDNF and NGF mRNA in primary cultures of hippocampal neurons and astrocytes. J Neurosci 1992; 12: 4793-9.
- Taglialatela G, Navarra D, Cruciani R, et al. Acetyl-L-Carnitine treatment increases nerve growth factor levels and choline acetyltransferase activity in the central nervous system of aged rats. Exp Gerontol 1994; 29: 55-66.
- Korsching S, Heumann R, Thoenen H, Hefti F. Cholinergic denervation of the rat hippocampus by fimbrial transection leads to a transient accumulation of NGF without change in mRNA content. Neurosci Lett 1966; 66: 175-80.