

## MANGANISMO CRONICO EXPERIMENTAL: ASPECTOS NEUROQUIMICOS. REVISION

**Dr. Ernesto Bonilla**

*Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia.  
Apartado 1151. Maracaibo, Venezuela.*

El manganeso es uno de los elementos menos tóxicos. Sin embargo, se han reportado numerosos casos clínicos de intoxicación crónica con manganeso, que se han caracterizado por un compromiso irreversible del sistema extrapiramidal. Sus manifestaciones neurológicas son similares a las observadas en las enfermedades de Parkinson y de Wilson (8, 50, 58, 66, 69). Para Barbeau y col (6), por el contrario, todas las víctimas de intoxicación con manganeso presentan manifestaciones de distonía. Mayor información sobre la incidencia, anatomía patológica y síntomas del manganismo, podrá encontrarse en una revisión previa (12).

Debido a que las manifestaciones neurológicas y psiquiátricas dominan el cuadro clínico del manganismo crónico, la mayor parte de los estudios experimentales se han concretado a las alteraciones producidas por este metal en el metabolismo cerebral. De hecho, el cerebro tiene la propiedad de retener el manganeso por períodos mayores que otro órganos, posiblemente por las dificultades que encuentra para eliminar el exceso del metal (25).

### MANGANESO Y CATECOLAMINAS

Cotzias y col (23) han señalado previamente las relaciones existentes entre el metabolismo del manganeso y el de las catecolaminas. En efecto,

se ha observado que los síndromes de deficiencia de manganeso en animales, y de manganismo crónico, en el hombre, son compatibles con defectos del metabolismo cerebral de las catecolaminas. Por otro lado, se ha demostrado que las catecolaminas son deaminadas en las mitocondrias, organelos en los cuales se acumula el manganeso. En este sentido es interesante señalar que los polimelanosomas deaminan a las catecolaminas, al mismo tiempo que acumulan manganeso.

Se ha demostrado que los ratones que poseen el gen mutante "pálido" presentan un déficit de manganeso en el cerebro y padecen de ataxia congénita, la cual puede ser prevenida mediante la administración de manganeso por vía oral (22). Cuando a estos animales se les administra L-dopa por vía oral, no se producen síntomas de disfunción cerebral debida al exceso de L-dopa. En los ratones controles, sí se observan estas manifestaciones. El análisis bioquímico demostró un incremento en las concentraciones de dopa y dopamina en el cerebro de los mutantes y de los controles, pero el aumento fue mucho menos marcado en los primeros. Estos y otros hallazgos indican un defecto en la capacidad del cerebro de estos animales, para metabolizar la L-dopa y el L-triptofano (22).

Los primeros estudios experimentales relacionados con el efecto del exceso de manganeso sobre el metabolismo de las catecolaminas, fueron realizados por Neff y col (54), quienes inyectaron  $MnO_2$  a monos y comprobaron una disminución significativa en las concentraciones de dopamina y serotonina en el núcleo caudado, mientras que las de norepinefrina y serotonina en el cerebro completo y en el tallo cerebral, no se modificaron. Los animales que presentaron el mayor disturbio de la función motora fueron aquellos en los cuales se demostraron las más importantes reducciones de las concentraciones de dopamina en el caudado. No se detectaron alteraciones histopatológicas en ninguna de las regiones cerebrales analizadas. Se deduce entonces, que las anomalías bioquímicas y clínicas pueden aparecer antes de que se produzcan las alteraciones citológicas en el cerebro.

Posteriormente, Mustafa y Chandra (53) reportaron que en el cerebro de conejos inyectados con  $MnO_2$  por vía intratraqueal, se produce un descenso significativo de las concentraciones de dopamina y norepinefrina.

Bonilla y Diez-Ewald (5) administraron  $MnCl_2$  por vía oral, durante 7 meses, a ratas Sprague-Dawley y observaron un descenso en las concentraciones cerebrales de dopamina y de ácido homovanílico. La L-dopa decarboxilasa aparentemente no fue afectada por el exceso del metal, ya que la administración de L-dopa a estos animales, produjo un incremento en las concentraciones de dopamina en el cerebro. Además, tanto en los

animales controles como en los sobrecargados con manganeso, cuando se inyectaron con L-dopa, se produjo un aumento en las concentraciones de dopamina y de ácido homovanílico. De estos hallazgos se deduce que las enzimas L-dopa decarboxilasa, monoamino-oxidasa y catecoloximetil-transferasa, no fueron afectadas por la sobrecarga de manganeso.

Por el contrario, Cotzias y col (23) al administrar manganeso por vía oral, comprobaron un aumento en el contenido de dopamina en el cerebro de ratones adultos. En los neonatos el aumento gradual del manganeso cerebral se correlacionó positiva y significativamente con las concentraciones de dopamina. Sus estudios parecen indicar que tanto la maduración como la función del aparato dopaminérgico, son dependientes del manganeso.

Hornykiewicz encontró una severa deficiencia de dopamina en el estriado de un paciente fallecido con síntomas de manganismo crónico (39).

Todos los hallazgos descritos sugieren una alteración de la actividad de la hidroxilasa de la tirosina (HT), enzima limitante de la tasa de producción de las catecolaminas (46). En efecto, en ratas tratadas crónicamente con una dosis elevada de  $MnCl_2$  (10 mg/ml agua de bebida) se demostró un incremento significativo en la actividad de esa enzima en el neostriado, cerebro medio e hipocampo, un mes después de haber iniciado el tratamiento. Al tercer mes, la actividad enzimática permaneció elevada en el neostriado, cerebro medio e hipotálamo, pero no en el hipocampo. Después de 6 meses de tratamiento, solamente en el neostriado pudo detectarse un aumento en la actividad. Sin embargo, a los 8 meses se demostró un descenso significativo de la actividad enzimática en el neostriado, sin alteraciones asociadas en las otras regiones cerebrales analizadas (13). El incremento inicial de la actividad de la HT observado en el neostriado, explicaría el aumento en la concentración de dopamina encontrado por Cotzias y col (23) en ratones y por Bull (16) en ratas sacrificadas a los 6 meses de estar ingiriendo  $MnCl_2$ . Estos hallazgos son interesantes porque, como ha sido señalado previamente (24), la intoxicación mangánica en el ser humano comienza con una fase psiquiátrica, con síntomas similares a los observados cuando aumenta la concentración de la dopamina cerebral. De hecho, se ha sugerido que el trastorno primario en la esquizofrenia es una hiperactividad de las neuronas dopaminérgicas (46, 64).

La fase neurológica permanente observada en humanos (39) y en primates (54), se acompaña de un descenso en la concentración de dopamina en el neostriado, debido posiblemente a la disminución de la actividad de la HT aparentemente ocasionada por el daño permanente a las neuronas dopaminérgicas. En efecto, estudios previos han demostrado picnosis de

las neuronas del estriado (10) y degeneración neuronal en las cortezas cerebral y cerebelosas de ratas sobrecargadas con manganeso (19). Además, en un caso de encefalopatía mangánica humana, se ha reportado una degeneración acentuada de las neuronas de la zona compacta de la sustancia negra (7).

El aumento inicial de la actividad de la HT pudiera ser debido a una o más de las siguientes razones:

a) Existen evidencias sugerentes de que la regulación de la síntesis de DA en las neuronas nigro-estriadas, depende de la función de los receptores dopaminérgicos (20). Las drogas antipsicóticas bloquean a esos receptores e incrementan la tasa de recambio de la dopamina estriatal al aumentar la afinidad de la HT por el cofactor pteridínico (70). Los agonistas dopaminérgicos producen el efecto contrario (1). La acción farmacológica de las fenotiazinas está relacionada con un bloqueo de los receptores dopaminérgicos (67). Como estas últimas drogas también aumentan la concentración de manganeso en el cerebro (14), se hace atractiva la hipótesis de que el bloqueo de los receptores dopaminérgicos, producido por la sobrecarga con manganeso, sería el responsable del incremento de la actividad de la HT. Sin embargo, la L-dopa (6, 10, 68), el lergotril y la bromocriptina (68), todos los cuales son potentes agonistas dopaminérgicos, también aumentan las concentraciones cerebrales de manganeso, pero no producen ningún cambio en la tasa de recambio dopaminérgico.

b) El aumento en la actividad de la HT pudiera ser debido a un incremento en la producción de la proteína enzimática. Se haría necesario la titulación inmunoquímica de la HT con anticuerpos específicos, para responder a esta interrogante (42).

c) Una tercera alternativa estaría dada por las interrelaciones entre la dopamina y el ácido gamma aminobutírico (GABA) en el estriado.

Deskin y col (26) administraron manganeso por vía oral a ratas neonatas, desde su nacimiento hasta los 24 días postpartum. Encontraron una reducción significativa en la concentración y en el recambio de la dopamina en el área hipotalámica, pero no observaron variaciones en el contenido de norepinefrina. En el cuerpo estriado, los niveles de estos neurotransmisores no sufrieron ninguna alteración. A la dosis de 20  $\mu\text{g/g}$  de peso corporal, el manganeso produjo un descenso marcado de la actividad de la HT y un incremento de la monoaminoxidasa (MAO) en el hipotálamo. En el estriado tampoco se observaron cambios en la actividad de estas dos enzimas. Mediante estudios *in vitro* los mismos autores (27) comprobaron que el manganeso no inhibe directamente la actividad de HT.

Con relación a la MAO existen estudios previos en los cuales se ha reportado un aumento en la actividad de esta enzima en el cerebelo y en el cerebro de ratas tratadas con manganeso (60, 62, 63). La importancia fisiológica de la MAO cerebral se desprende de su papel como inactivadora de la dopamina, norepinefrina y serotonina. La estimulación de la actividad de MAO pudiera resultar del hecho de que, tanto esta enzima como el manganeso, se concentran normalmente en las mitocondrias (21). Es necesario sin embargo señalar que, el incremento reportado por estos autores en la actividad de MAO, no concuerda con el descenso en el recambio de la dopamina observado por Deskin y col (26).

Recientemente, Donaldson y col (29) han demostrado que el manganeso aumenta la autooxidación de la dopamina con lo cual se incrementa la generación de los radicales libres  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  y  $OH^\cdot$ . Estos contribuirían significativamente a la producción de los cambios neurodegenerativos que acompañan a la intoxicación mangánica en el hombre. Observaron que diversos iones metálicos ( $Mn^{++}$ ,  $Cu^{++}$ ,  $Ni^{++}$ ,  $Zn^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ) promueven la autooxidación de la dopamina, según un orden de potencia muy relacionado con los potenciales de oxidoreducción de los mismos. En efecto, el  $Mn^{++}$ , que es el más electropositivo de los iones divalentes utilizados, fue el más efectivo. Estos resultados corroboraron los de Gillete y col (34), quienes habían comprobado la notable efectividad del  $Mn^{++}$  para estimular la oxidación de las catecolaminas.

La inyección intracerebroventricular de manganeso ocasiona movimientos rotacionales en ratas canuladas y conscientes (28). La inyección bilateral intraestriatal del metal produce un síndrome semejante al obtenido con la administración de reserpina (41). Si se usan las mismas vías de inyección, la 6-hidroxidopamina ocasiona efectos similares (33). Los resultados de Donaldson y col (29), parecen indicar que estos efectos pudieran explicarse en base a un mecanismo de acción común para ambos agentes. De hecho, la habilidad que tienen la 6-hidroxidopamina y la dopamina para autooxidarse produciendo neurotoxinas concomitantemente, se ha reportado previamente (37). El manganeso, al aumentar la oxidación de la dopamina incrementaría la formación de citotoxinas, todo lo cual contribuye significativamente al proceso neurodegenerativo, especialmente en las regiones ricas en neuronas catecolaminérgicas.

## EFFECTO DE LA INTOXICACION CRONICA CON MANGANESO SOBRE EL METABOLISMO DE GABA

Los estudios realizados referente a la distribución de GABA en el cerebro de los mamíferos, han demostrado que la sustancia negra y el núcleo

caudado se encuentran entre las regiones que contienen las más altas concentraciones de GABA (55). Esta y otras evidencias (2, 31) sugieren la existencia de un sistema inhibitor gabaérgico estriato-nigral constituido por neuronas, cuyos cuerpos celulares se localizan en el núcleo caudado y sus terminales sinápticos contactan a las neuronas dopaminérgicas nigro-estriadas. Gracias a esta interrelación, cualquier alteración en la actividad dopaminérgica estriatal, podría originar cambios en el metabolismo de GABA en esa zona y viceversa. Ya he señalado que el manganeso crónico se caracteriza por síntomas neurológicos encontrados frecuentemente en la Enfermedad de Parkinson. En esta última se ha reportado un déficit de dopamina (30) y una disminución de la actividad de la decarboxilasa glutámica (40) en la sustancia negra, núcleo caudado y putamen. Esas observaciones nos condujeron a estudiar el metabolismo de GABA en ratas tratadas con  $MnCl_2$  por vía oral durante 2 meses. Se pudo comprobar que en los animales sobrecargados con manganeso, la concentración de GABA en el núcleo caudado se incrementó sensiblemente, a pesar de que no se observaron variaciones en las actividades de la decarboxilasa glutámica y de la GABA-transaminasa (11).

El aumento en la concentración de GABA pudiera ser la expresión del estado funcional de las neuronas gabaérgicas estriato-nigrales. Es posible que la sobrecarga mangánica produjera una inhibición del flujo del impulso nervioso y una reducción de la liberación de GABA desde las neuronas gabaérgicas hacia las neuronas nigrales dopaminérgicas. La consecuencia de estos eventos sería un incremento neto en la concentración de GABA en el núcleo caudado. Varios reportes apoyan esta presunción: en primer lugar, se ha establecido que el calcio se desplaza a través de la membrana presináptica en respuesta a la despolarización de la misma (43); además, en axones de calamar se ha demostrado que este flujo de calcio es inhibido por iones manganeso (4). Estos también inhiben la transmisión sináptica (51) y la liberación de los neurotransmisores en los terminales nerviosos simpáticos en gatos (44), y en la placa neuromuscular de la rana (5). El manganeso bloquea la transmisión sináptica y reduce la liberación de acetilcolina en el ganglio cervical superior perfundido del gato (45). Por lo tanto, si este efecto inhibitor de la liberación de norepinefrina y acetilcolina, producido por los iones manganeso, correspondiera a un fenómeno universal, extendible a las neuronas dopaminérgicas, cabría esperar un aumento en la concentración de dopamina en esas neuronas, como consecuencia de la inhibición de su liberación. Barbeau y col (6) han sugerido este mecanismo para explicar el giro ipsilateral que se produce después de la inyección unilateral de  $MnCl_2$  en el cuerpo estriado de las ratas. Por otro lado, la reducción en la liberación de GABA desde las neuronas gabaérgicas hacia las neuronas dopaminérgicas nigrales, produciría una facilitación de la actividad de estas últimas, ocasionando, como consecuencia,

un incremento en la actividad de la HT en el estriado y en la sustancia negra.

## MANGANISMO CRONICO Y METABOLISMO DE LA ACETILCOLINA

El cuerpo estriado contiene elevadas concentraciones de acetilcolina (AC) en las interneuronas (17, 48) y en los terminales sinápticos de las fibras colinérgicas que proceden del núcleo parafascicular del tálamo (61). Existen evidencias de que las neuronas dopaminérgicas nigrales establecen sinapsis con neuronas colinérgicas y, posiblemente, con neuronas gabaérgicas del estriado y de que las neuronas colinérgicas que se proyectan hacia el estriado, establecen contacto sináptico con los terminales dopaminérgicos (52). Estas interrelaciones entre terminales dopaminérgicos y colinérgicos y las neuronas gabaérgicas, son esenciales para el funcionamiento normal del estriado. Las alteraciones producidas en cualquiera de estos sistemas neuronales, se traduciría en variaciones en la actividad de los otros sistemas. Por tales razones, procedimos a estudiar el efecto de la intoxicación crónica con manganeso sobre las enzimas responsables de la síntesis y degradación de la acetilcolina: colina-acetiltransferasa (CAT) y acetilcolinesterasa (ACE), respectivamente. Se estudiaron las 7 regiones cerebrales disecadas según la técnica de Glowinski e Iversen (35): núcleo caudado, hipotálamo, cerebro medio, hipocampo, puente, cerebelo y corteza frontal. CAT no fue afectada en ninguna de las regiones analizadas al mes, tres meses y ocho meses después de haber iniciado el tratamiento con  $MnCl_2$  (10 mg/ml en el agua de bebida). La actividad de la ACE disminuyó en el núcleo caudado solamente durante el octavo mes. En las otras regiones la actividad enzimática no sufrió cambios en ningún momento durante el curso del tratamiento (Martínez H. y Bonilla E., en prensa).

Los resultados señalados parecen indicar que las neuronas colinérgicas son resistentes al efecto tóxico del manganeso. El hallazgo de la disminución de la actividad de la ACE en el neostriado, pudiera ser interpretado como indicativo de daño neuronal colinérgico. Sin embargo, existen evidencias de que las neuronas nigrales dopaminérgicas contienen ACE (18). Se desconoce la función desempeñada por esta enzima en estas neuronas dopaminérgicas, pero es probable que no sea utilizada para metabolizar a la AC, puesto que las lesiones de la sustancia nigra no influyen en las concentraciones de AC o la actividad de CAT en el estriado (52). El descenso de la actividad de la HT que observamos al octavo mes de tratamiento con  $MnCl_2$  (13), muy probablemente fue debido a la destrucción de las neuronas dopaminérgicas nigrales. Esta alteración sería la responsable de la disminución de la actividad de la ACE en los terminales dopaminérgicos estriatales.

La inhibición de la liberación de AC, ocasionada por los iones manganeso, podría ser la causante del incremento en las concentraciones intraneuronales de este neurotransmisor, así como de un cambio en la actividad de CAT. Sin embargo, esto último no se produce porque esta enzima está normalmente presente en exceso en el tejido cerebral. De hecho, el factor limitante de la síntesis de la AC es la disponibilidad del sustrato y no la actividad de CAT (38). No hay que descartar la posibilidad de que al incrementarse la concentración intraneuronal de AC se inhiba la captación de colina, pero los cambios en la actividad de CAT no se detecten en los ensayos *in vitro*. En efecto, se ha demostrado que los inhibidores de CAT son más efectivos *in vitro* que *in vivo*, hallazgo que sugiere la existencia de una gran concentración tisular de la enzima (49).

Sitaramayya y col (63) han reportado un descenso significativo de la ACE en corteza cerebral, cerebelo y el tejido cerebral restante, de ratas tratadas con  $MnCl_2$  inoculado por vía intraperitoneal, durante 120 días. Es posible que esta técnica de intoxicación les haya permitido alcanzar mayores concentraciones cerebrales del metal y por lo tanto, una alteración más acentuada del sistema colinérgico central. La actividad de ACE también se ha encontrado descendida en el cerebro de ratas neonatas (60).

Es interesante señalar, que la tasa de crecimiento y el peso corporal de las ratas sometidas a sobrecarga mangánica han sido normales en todos los estudios que hemos realizado (13). Singh y Chandra (62), Seth y col (60) y Deskin y col (26) han obtenido resultados similares en ratas neonatas.

Las ratas intoxicadas ingirieron una menor cantidad de agua de bebida que los controles (Martínez H. y Bonilla E., en prensa). En relación a este hallazgo, se ha demostrado que la destrucción de las neuronas catecolaminérgicas con 6-hidroxidopamina produce una disminución de la ingestión de líquidos (15, 36, 65). En estudios realizados previamente, se ha demostrado la sensibilidad de las neuronas catecolaminérgicas a la intoxicación crónica con manganeso (10, 13, 53, 54). Estos hallazgos pudieran explicar la disminución en la ingestión de líquidos por parte de las ratas intoxicadas. Sin embargo, el efecto inhibitor lo encontramos presente durante los ocho meses del período experimental, lo cual nos hace creer que el acceso fácil del manganeso a los receptores que controlan la sed (debido a la ausencia de la barrera hematoencefálica en esa región), produce una inhibición de la actividad de estos receptores (3). A medida que va transcurriendo el tiempo, el exceso del metal iría alterando la estructura y el funcionamiento de estas células. Sin embargo, no puede descartarse la posibilidad de que la sobrecarga con manganeso provoque cambios en el volumen sanguíneo, en la renina plasmática y en los niveles de sodio, factores que han sido implicados en los mecanismos de producción de la sed (32).



## MANGANISMO CRONICO Y OTRAS ALTERACIONES ENZIMATICAS

Seth y col (60) después de administrar manganeso a ratas neonatas, a través de sus madres que estaban ingiriendo 15 mg  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ /Kg peso/día durante 30 días, observaron un descenso significativo en las actividades de la dehidrogenasa succínica, adenosina trifosfatasa, adenosina deaminasa y acetilcolinesterasa en el cerebro, tanto de las ratas neonatas como de sus madres.

La enzima superóxida dismutasa (SOD) es responsable de la conversión de  $2H^+$  y  $2O_2^-$  a  $H_2O_2$  y  $O_2$ , inactivando de esa manera a los radicales superóxidos, los cuales pueden producir alteraciones de las membranas y otras estructuras biológicas. Existen dos formas de esta enzima, la Zn-Cu-SOD citosólica, cuya actividad catalítica es inhibida por cianuro (56) y la Mn-SOD, localizada en la matriz mitocondrial e insensible al cianuro (57). Se ha comprobado que la deficiencia de manganeso disminuye la actividad de la Mn-SOD. Lo que ha hecho pensar que esta metaloenzima pudiera utilizarse como indicadora del estado del metabolismo del manganeso (57). Aunque no han aparecido reportes sobre el efecto del manganeso crónico sobre la actividad de esta enzima, es de suponer que por su localización mitocondrial, sufra alteraciones paralelas a las otras enzimas discutidas. El estudio de la actividad de la Mn-SOD en el cerebro de animales intoxicados con manganeso contribuiría a resolver algunas de las interrogantes planteadas por la hipótesis de Donaldson y col (29).

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ANDEN NE, RUBENSON A, FUXE K, HOKFELT T: Evidence for dopamine receptor stimulation by apomorphine. *J Pharm Pharmac* 19: 627-629, 1967.
- 2- ANDEN NE, STOCK G: Inhibitory effect of gammahydroxybutyric acid and gammaaminobutyric acid on the dopamine cells in the substantia nigra. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmac* 279: 89-92, 1973.
- 3- ANDERSON B: Regulation of water intake. *Physiol Rev* 58: 582-603, 1978.
- 4- BAKER PF, HODRIN AL, RIDGEWAY EB: Depolarization and calcium entry in squid giant axons. *J Physiol Lond* 218: 709-755, 1971.
- 5- BALNAVE RJ, GAGE PW: The inhibitory effect of manganese on transmitter release at the neuromuscular junction of the toad. *J Pharmac* 47: 339-352, 1973.

- 6- BARBEAU A, INOUE N, CLOUTIER TH: Role of manganese in dystonia. *Adv Neurol* 14: 339-352, 1976.
- 7- BERNHEIMER H, BIRKMAYER W, HORNYKIEWICZ O, JELLINGER K, SEITELBERGER F: Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological, and neurochemical correlations. *J Neurol Sci* 20: 415-425, 1973.
- 8- BONILLA E: Estudios in vivo e in vitro del metabolismo del manganeso. Manganismo crónico experimental y catecolaminas. *Invest Clín* 15: 2-79, 1974.
- 9- BONILLA E, DIEZ-EWALD M: Effect of L-dopa on brain concentration of dopamine and homovanillic acid in rats after chronic manganese chloride administration. *J Neurochem* 22: 297-299, 1974.
- 10- BONILLA E, DIEZ-EWALD M, FINOL MEDRANO J: Effect of L-dopa in  $Mn^{54}$  incorporation by tissues. *J Pharm Pharmac* 26: 261-264, 1974.
- 11- BONILLA E: Increased GABA content in caudate nucleus on rats after chronic manganese chloride administration. *J Neurochem* 31: 551-552, 1978.
- 12- BONILLA E, LEVINE S, DE SALAZAR E: Intoxicación crónica con manganeso. *Acta Cient Venezolana* 29: 332-337, 1978.
- 13- BONILLA E: L-Tyrosine hydroxylase activity in the rat brain after chronic oral administration of manganese chloride. *Neurobehav Toxicol* 2: 37-41, 1980.
- 14- BOGE DC, COTZIAS GC: Interaction of trace elements with phenothiazine drug derivatives. *Proc Natu Acad Sci USA* 48: 617-652, 1962.
- 15- BREESE GR, SMITH RM, COOPER BR, GRANT LD: Alterations in consummatory behavior following intracisternal injection of 6-hidroxydopamine. *Pharmacol Biochem Behav* 1: 319-328, 1973.
- 16- BULL RJ: Paradoxical decrease in corpus striatal manganese concentration with manganese load. *Communs Psychopharmacol* 2: 17-20, 1978.
- 17- BUTCHER SG, BUTCHER LL: Origin and modulation of acetylcholine activity in the neostriatum, *Brain Res* 71: 167-171, 1974.
- 18- BUTCHER LL: Nature and mechanism of cholinergic monoaminergic interactions in the brain. *Life Sci* 21: 1207-1226, 1977.

- 19- CHANDRA SV, SRIVASTAVA SP: Experimental production of early brain lesions in rats by parenteral administration of manganese chloride. *Acta Pharmac tax* 28: 177-183, 1970.
- 20- COSTA E, GUIDOTTI A, ZIVKOVIC B: Short and long-term regulation of tyrosine hydroxylase. In: *Neuropsychopharmacology of monoamines and their regulatory enzymes*, p 161-175, Raven Press, New York, 1974.
- 21- COTZIAS GC: Metabolic modification of neurological disorders. *JAMA* 210: 1255-1262, 1969.
- 22- COTZIAS GC, TANG LC, MILLER ST, SLADIC-SIMIC D, HURLEY LS: Amutation influencing the transformation of manganese, L-dopa, and L-tryptophan. *Science* 176: 410-412, 1972.
- 23- COTZIAS GC, PAPAVALIIOU PS, MENA I, TANG LC, MILLER ST: Manganese and Catecholamines. *Adv Neurol* 5: 235-243, 1974.
- 24- COTZIAS GC, MILLER ST, PAPAVALIIOU PS, TANG LC: Interactions between manganese and brain dopamine. *Med Clin N A* 60: 729-738, 1976.
- 25- DASTUR DK, MANGHANI DK, RAGHAVENDRAN KV: Distribution and fate of <sup>54</sup>Mn in the monkey: studies of different parts of the Central Nervous System and others organs. *J Clin Invest* 50: 9-20, 1971.
- 26- DESKIN R, BURSIAJ SJ, EDENS FW: Neurochemical alteration induced by manganese chloride in neonatal rats. *Neurotoxicology* 2: 65-73, 1981.
- 27- DESKIN R, BURSIAJ SJ, EDENS FW: An investigation into the effects of manganese and other divalent cations on tyrosine hydroxylase activity. *Neurotoxicology* 2: 75-81, 1981.
- 28- DONALDSON J, CLOUTIER T, MINNICH JL, BARBEAU A: Trace metals and biogenic amines in rat brain. *Adv in Neurol* 5: 245-252, 1974.
- 29- DONALDSON J, LABELLA FS, GESSER D: Enhanced autoxidation of dopamine as a possible basis of manganese neurotoxicity. *Neurotoxicology* 2: 53-64, 1981.
- 30- EHRINGER H, HORNYKIEWICK O: Verteilung von noradrenalin und dopamin (3-hydroxytyramin) im gehirn des meuschen und ihr verhalten bei erkrankungen des extrapyramidalen systems. *Klin Wschr* 38: 1236-1239, 1960.

- 31- FELTZ P: Gamma-aminobutyric acid and a caudate-nigral inhibition. *Can J Physiol Pharmacol* 49: 1113-1115, 1971.
- 32- FITZSIMONS JT: Thrust. *Physiol Rev* 52: 468-561, 1972.
- 33- GARATTINI S, SAMANIN R: Selective neurotoxicity of 6-hydroxy-dopamine. In: *Neurotoxicology*. Raizin L, Shiraki H, Grceviz N, eds, p 15-23, Raven Press New York, 1977.
- 34- GILLETE JR, WATLAND D, KALNITSKY G: Some properties of the manganese and copper catalyzed oxidation of catechol and some other ortho-dihydroxybenzene derivatives. *Biochim Biophys Acta* 16: 51-57, 1955.
- 35- GLOWINSKI J, IVERSEN L: Regional studies of catecholamines in the rat brain I. The disposition of H<sup>3</sup>-norepinephrine, H<sup>3</sup>-dopamine, and H<sup>3</sup>-dopamin various regions of the brain. *J Neurochem* 13: 655-669, 1966.
- 36- GORDON FJ, BRODY MJ, FINK GD, BUGGY J, JOHNSON AK: Role of central catecholamines in the control of blood pressure and drinking behavior. *Brain Res* 178: 161-173, 1979.
- 37- GRAHAM DG: Oxidative pathways for catecholamines in the genesis of neuromelanin and cytotoxic quinones. *Mol Pharmacol* 14: 633-643, 1978.
- 38- HAUBRICH DR, CHIPPENDALE TJ: Regulation of acetylcholine synthesis in nervous tissue. *Life Sci* 20: 1465-1475, 1977.
- 39- HORNYKIEWICZ O: Neurochemical pathology and pharmacology of brain dopamine and acetylcholine: rational basis for the current drug treatment of Parkinsonism In: *Recent advances in Parkinson's disease*. McDowell FH, Markham CH, eds., p 33-65, Davis, Philadelphia, 1971.
- 40- HORNYKIEWICZ O, LLOYD KG, DAVIDSON L: In *GABA in nervous System Function*. Roberts E, Chase TN, Towers DB, eds., p 479. Raven Press, New York, 1976.
- 41- INOVE N, TSUKADA Y, BARBEAU A: Behavioral effects in rats following intrastriatal microinjection of manganese. *Brain Res* 95: 103-124, 1975.
- 42- JOH TH, GEGHMAN C, REIS DJ: Immunochemical demonstration of increased accumulation of tyrosine hydroxylase protein in sympathetic ganglia and adrenal medulla elicited by reserpine. *Proc Natu Acad Sci USA* 70: 2767-2771, 1973.

- 43- KATZ B, MILEDI R: Further study of the role of calcium in synaptic transmission. *J Physiol Lond* 207: 789-801, 1970.
- 44- KIRPEKAR SM, DIXON N, PRATT JC: Inhibitory effect of manganese on norepinephrine release from the splenic nerves of cat. *J Pharmacol exp ther* 174: 72-76, 1970.
- 45- KOSTIAL K, LANDEKA M, SLAT B: Manganese ions and synaptic transmission in the superior cervical ganglion of the cat *Br J Pharmacol* 51: 231-235, 1974.
- 46- LEVITT M, SPECTOR S, SJOERDSMA A, UDENFRIEND S: Elucidation of the rate-limiting step in NE biosynthesis in the perfused guinea pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* 148: 1-8, 1965.
- 47- MATTHYSSE S: Antipsychotic drug actions: a clue to the neuropathology of schizophrenia? *Fed Proc* 32: 200-205, 1973.
- 48- McGEER PL, McGEER EG, FIBIGER HC, WICKSON V: Neostriatal choline acetylase and cholinesterase following selective brain lesions. *Brain Res* 35: 308-314, 1971.
- 49- McGEER PL, ECCLES JC, McGEER E: Molecular neurobiology of the mammalian brain. p 178. Plenum Press Corporation, New York, 1978.
- 50- McNALLY WD: Industrial manganese poisoning with a review of the literature, *Industr Med* 4: 581-599, 1935.
- 51- MILEDI R: Strontium as a substitute for calcium in the process of transmitter release at the neuromuscular junction. *Nature* 212: 1233-1234, 1966.
- 52- MOORE KE, WUERTHELE SM: Regulation of nigrostriatal and tuberoinfundibular-hypophysial dopaminergic neurons. *Prog Neurobiol* 13: 325-359, 1979.
- 53- MUSTAFA SJ, CHANDRA SU: Levels of 5-hydroxytryptamine, dopamine, and norepinephrine in whole brain of rabbits in chronic manganese toxicity. *J Neurochem* 18: 931-933, 1971.
- 54- NEFF NH, BARRET RE, COSTA E: Selective depletion of caudate nucleus dopamine and serotonin during chronic manganese dioxide administration to squirrel monkeys. *Experientia* 25: 1140-1141, 1969.
- 55- OKADA Y, NITSCH-HASSLER C, KIM JS, BAK IJ, HASSLER R: Role of GABA in the extrapyramidal motor system. I. Regional dis-

tribution of GABA in rabbit, rat, guinea pig, and babson CANS. *Exp Brain Res* 13: 514-518, 1971.

- 56- PAYNTER DI, MOIR RJ, UNDERWOOD EJ: Changes in activity of the Cu-Zn superoxide Dismutase enzyme in tissues of the rat with changes in dietary copper. *J Nutr* 109: 1570-1576, 1979.
- 57- PAYNTER DI: Changes in activity of the manganese superoxide dismutase enzyme in tissues of the rat with changes in dietary manganese. *J Nutr* 110: 437-447, 1980.
- 58- RODIER J: Manganese poisoning in Moroccan Miners. *Brit J Industr Med* 12: 23, 1955.
- 59- SACANDER A, SALLAM HA: A report on eleven cases of chronic manganese poisoning. *J Egypt Med Ass* 19: 57-62, 1936.
- 60- SETH PK, HUSAIN R, MUSHTAQ M, CHANDRA SV: Effect of manganese on neonatal rats: manganese concentration and enzymatic alterations in brain. *Acta Pharmacol et Toxicol* 40: 553-560, 1977.
- 61- SIMKE JP, SAELENS JK: Evidence for a cholinergic fiber tract connecting the thalamus with the head of the striatum of the rat. *Brain Res* 126: 489-495, 1977.
- 62- SINGH S, CHANDRA SV: Brain monoamine oxidase in manganese toxicity. *Chemosphere* 2: 147-152, 1977.
- 63- SITARAMAYYA A, NAGAR N, CHANDRA JV: Effect of manganese on enzymes in rat brain. *Acta Pharmacol et Toxicol* 35: 185-190, 1974.
- 64- SNYDER SH: Amphetamine psychosis: a "model" schizophrenia mediated by catecholamines. *Am J Psychiat* 130: 61-67, 1973.
- 65- STRICKER EM, ZIGMOND MJ: Effects on homeostasis of intraventricular injection of 6-hydroxydopamine in rats. *J Comp Physiol Psychol* 86: 973-994, 1974.
- 66- TANAKA S, LIEBEN J: Manganese poisoning and exposure in Pennsylvania. *Arch Environ Health* 19: 674-684, 1969.
- 67- VAN ROSSUM JM: The significance of dopamine receptors blockade for the actions of neuroleptic drugs. *Fifth Int Congr Neuropsychopharm* p 321-329, 1966.
- 68- WEINER WL, NAUSIEDA PA, KLAWANS HL: The effect of levodopa, lergotriple, and bromocriptine on brain iron, manganese, and copper. *Neurology* 28: 734-737, 1978.

- 69- WITLOCK CM, AMUSO SJ, BITTENBENDER JB: Chronic neurological disease in two manganese steel workers. *Am Indust Hyg Ass J* 27: 454-459, 1966.
- 70- ZIVROVIC B, GUIDOTTI A, COSTA E: Effects of neuroleptics on striatal tyrosine hydroxylase: changes in affinity for the pteridine cofactor. *Molec Pharmac* 10: 727-735, 1974.
-