بررسی توپوگرافیک وابرانهای جسم سیاه به هسته میانی پشتی هیپوتالاموس درموش صحرایی با استفاده از ردیاب HRP

مهدی مهدی زاده .Ph.D[☆♦]، پریچهر پاسبخش .Ph.D[★]، ژیلا بهزادی .Ph.D[☆]

☆ دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی ایران، گروه آناتومی

★ دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی تهران، گروه آناتومی

☆ دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، گروه فیزیولوژی

♦ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۸۳، دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز علوم پایه، گروه آناتومی

چکیده

* **هدف:** بررسی ارتباط توپوگرافیک بین جسم سیاه و تالاموس به کمک ردیاب HRP (Horse Radish Peroxidase)

* **مواد و روشها:** ردیاب HRP در هسته میانی پشتی (MD: Mediodorsal thalamic nucleus) تالاموس به ۲۵ سر موش صحرایی نژاد Sparague Dawley تزریق و پس از گذشت ۴۸ تا ۷۲ ساعت بافت مغز به روش پرفیوژن از راه بطن چپ تثبیت شد. از بخشهای دیانسفال و مزانسفال مقاطع ۴۰ تا ۵۰ میکرونی تهیه و پس از انجام واکنشهای آنزیمی با استفاده از روش تترا متیل بنزیدن رنگ‌آمیزی شدند.

* **یافته‌ها:** بررسی مقاطع با میکروسکوپ نوری نشان داد که فیبرهای نیگروتالامیک بیشتر از نورونهایی شروع می‌شوند که در قسمتهای سری و جانبی بخش مشبک جسم سیاه قرار دارند و تنها تعداد کمی نورون در بخش دمی نشاندار شده بودند. سایر نورونهای نشاندار در مرز بخش متراکم (SNC: Substantia Nigra Pars Compacta) و بخش مشبک (SNR: Substantia Nigra Pars reticulata)، و همچنین تگمنتوم شکمی مغز میانی به‌خصوص در محل خروج عصب زوجی III قرار داشتند. به‌طور کلی نورونها از نوع کوچک یا متوسط چند قطبی بوده و در هیچ‌کدام از موارد در سمت مقابل تزریق، نورون نشانداری در ماده سیاه مشاهده نشد.

* **نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد وابرانهای غیردوپامینی که از هسته‌های جسم سیاه شروع می‌شوند به هستهٔ میانی پشتی تالاموس منتهی می‌شوند. لذا به‌نظر می‌رسد جسم سیاه نه تنها بر مکانیسمهای حرکتی بلکه بر سیستم لیمبیک و پاره‌ای از اعمال حسی از طریق راههای یاد شده، اثر می‌گذارد.

کل واژگان: ماده سیاه (SN)، هسته میانی پشتی (MD)، ردیاب HRP

مقدمه

ماده سیاه بخشی از مجموعه اجسام قاعده‌ای Basal Ganglia به‌شمار می‌رود که در کنترل حرکات از طریق ارتباط با تالاموس و نئوکورتکس نقش دارد. سلولهای دوپامینی اغلب در قسمت متراکم و نورونهای گاباارژیک بیشتر در قسمت مشبک ماده سیاه متمرکزند (۱). تحقیقات الکتروفیزیولوژی و بیوشیمیایی ضمن مشخص نمودن خروجیهای غیردوپامینی از بخش مشبک جسم سیاه به تالاموس نشان داده‌اند که ارتباط نورونهای بخش جانبی قسمت مشبک با تالاموس حاوی نوروترانسمیتر گابا است، در حالی که نورونهای بخش تگمنتوم شکمی و قسمت متراکم ماده سیاه، دوپامینرژیک هستند و هر دو دسته نورونی به نقاطی از کورتکس پری فرونتال مرتبط می‌شوند که هسته‌های تالاموس نیز با همین نقاط ارتباط برقرار می‌کنند. با توجه به ویژگی جسم سیاه از نظر تنوع نوروترانسمیترهای آن و همچنین ساختار نورونی ناهمگون آن، می‌توان آن را بر اساس معیارهای متفاوتی تقسیم‌بندی و بر همین اساس ارتباط و خصوصیات فیزیولوژیک آن را بررسی کرد. در موش و دیگر پستانداران این هسته نقش مهمی در تنظیم رفتارهای حرکتی دارد (۲). کشف بیماری پارکینسون در انسان که با از دست رفتن نورونهای دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه همراه است و همچنین بیماری ژنتیکی کره هانتینگون که در آن بیشتر نورونهای بخش مشبک جسم سیاه تخریب می‌شوند (۳)؛ باعث شده که بررسی ارتباط نورونهای بخشهای مختلف جسم سیاه بیشتر مورد توجه قرار گیرد و برای این امر، مدلهای تجربی با تخریب انتخابی شیمیایی جسم سیاه برای تحقیق در مورد بیماری پارکینسون مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴).

مطالعات ردیابی عصبی ترتروگراد با استفاده از آنزیمهای گوناگون در موش صحرایی (۵، ۶) و گربه (۷) نشان داده‌اند که مهمترین وابرانهای بخش مشبک ماده سیاه به تکتوم، اجسام مخطط و تالاموس ختم می‌شوند. نورونهای مرتبط با تالاموس یک نوار سلولی طولی را در قسمت خارجی و مرکزی ماده سیاه تشکیل داده و به هسته MD منتهی می‌شوند. مطالعات بیوشیمیایی و الکتروفیزیولوژی، ارتباط دو طرفه ماده سیاه را گزارش نموده است (۸) و در این مطالعات که به کمک WGA-HRP[1] و در موش صحرایی صورت گرفت، ارتباط اندک Contralateral جسم سیاه با هسته MD تالاموس بیان شد.

با توجه به شناخت برخی از بیماریهایی که سیستم حرکتی انسان را دربرمی‌گیرد، بیشترین توجه در قسمت مرکزی جسم سیاه و اجسام مخطط بوده است. هر چند تالاموس ارتباط زیادی با بخش مشبک ماده سیاه دارد اما این ارتباط و در نتیجه مسیر Nigro-talamo-cortical چندان مورد توجه و تحلیل قرار نگرفته است. در مطالعات گذشته هر چند برخی از هسته‌های تالاموس که با ماده سیاه در ارتباطند معرفی شده، اما مشخص نشده که چه قسمتهایی از بخش مشبک ماده سیاه با تالاموس مرتبط هستند و تعداد تقریبی این نورونها به چه میزان است. لذا در تجربهٔ حاضر ضمن مشخص نمودن چگونگی توزیع الیاف و پایانه‌های جسم سیاه به هسته MD تالاموس و پاسخ به سئوالات فوق، مسیر و مدار فوق‌الذکر نیز تحلیل و بررسی شد.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۲۵ سر موش صحرایی رت نر از نژاد Sprague-Dawley با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در حیوانخانه با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت ۲۵-۲۰ سانتی‌گراد قرار داشتند و آب و غذای کافی در دسترس حیوانات قرار داشت. حیوانات با تزریق داخل صفاقی نمبوتال سدیم به میزان ۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن، بیهوش شدند. برای جراحی استریوتاکسیک، سر حیوان بیهوش شده در دستگاه استریوتاکس Steolting 51600 که توسط میله‌های گوشی و دندانی ثابت می‌شوند، قرار گرفت. در سطح جمجمه با استفاده از اطلس پاکسینوس (۹)، مختصات محل تزریق تعیین شد و ۰/۳ تا ۰/۵ میکرولیتر ردیاب (HRP-Sigma) با غلظت ۳۳ درصد توسط سرنگ هامیلتون در هستهٔ MD تالاموس تزریق شد. سرنگ به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در داخل مغز نگه داشته شد تا از پخش شدن HRP جلوگیری شود و پس از پایان تزریق، موضع عمل ضد عفونی و پوست سر بخیه شد. بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت زمان حیاتی، مجدداً حیوان با نمبوتال سدیم ۴۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌طور عمیق بیهوش و پس از باز کردن قفسه سینه، آئورت نزولی بسته شد و کانولی از طریق بطن چپ وارد آئورت صعودی گردید. سپس با استفاده از ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی، عروق مغز شستشو داده شد و متعاقباً ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول تثبیت کننده حاوی گلوتارآلدئید ۱/۲۵ درصد (Sigma) و پارافرمالدئید یک درصد (Sigma) در بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۴) به‌مدت ۳۰ دقیقه و به‌دنبال آن ۵۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات محتوی سوکروز ۱۰ درصد (pH=۷/۴) به مدت ۲۰ دقیقه عبور داده شد. سپس بلافاصله مغز از جمجمه خارج شد و در بافر فسفات سوکروز ۱۰ درصد که محتوی ۱۰ درصد گلیسرول نیز بود به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ سانتی‌گراد قرار داده شد. برای مقطع‌گیری، ابتدا مغز موش به مدت ۲۰ دقیقه در ازت مایع ۱۹۶- سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس توسط میکروتوم انجمادی American Optical Corporation، مقاطعی به ضخامت ۵۰-۴۰ میکرون تهیه شد و در شیشه‌های حاوی بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۴) به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت نگهداری شد. واکنش هیستوشیمیایی آنزیمی به‌روش TMB[2] انجام شد و بعد از شستشو با آب مقطر به مدت ۲۰ دقیقه در محلول انکوباسیون که خود ترکیبی از دو محلول A و B است قرار گرفتند؛ محلول A شامل ۹۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر، ۵ میلی‌لیتر بافر استات (pH=۳/۳) و ۴۰ میلی‌گرم سدیم نیتروفری سیانید (Sigma) و محلول B شامل ۵ میلی‌گرم تراسیل بنزیدین ۵/۵ (Sigma) بود و ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول مطلق (Merck) است. برای آشکار نمودن فعالیت HRP، واکنش آنزیمی با افزودن آب اکسیژنه ۰/۳ درصد دنبال شد. در مرحله بعد، مقاطع توسط محلول Post Reaction که با افزودن ۵ میلی‌لیتر بافر استات (pH=۳/۳) به ۹۵ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شده بود، شش بار شستشو داده شد و به‌دنبال

1. Wheat Germ Agglutinin-HRP
2. Tetramethylbenzidin

آن مقاطع روی لامهای ژلاتینه شده قرار داده و خشک شدند. در انتها مقاطع توسط محلول قرمز خنثی[1] (یک درصد) رنگ‌آمیزی و با چسب Entellen (Merck) لامل‌گذاری شدند. لامها توسط میکروسکوپ نوری مطالعه و سلولهای نشاندار براساس اطلس پاکسینوس جای‌گذاری شدند. به‌علت طویل بودن جسم سیاه از هر ۵ مقطع ۴۰ میکرونی، یک مقطع انتخاب و نورونهای نشاندار شمارش شدند. تعداد کل سلولها طبق فرمول زیر محاسبه شد (۱۰):

$$NT=Ns.StSs$$

که در این فرمول، Nt: تعداد کل سلولهای نشاندار شمارش شده در هسته، Ns: تعداد کل سلولهای نشاندار شمارش شده در نمونه مورد مطالعه، St: تعداد کل مقاطع هسته مورد مطالعه و Ss: تعداد کل مقاطع نمونه‌برداری شده را نشان می‌دهد. در ادامه توسط میکروپروژکتور ۱۰۰۰x، مقاطع موردنیاز ترسیم و در پایان عکسبرداری شدند.

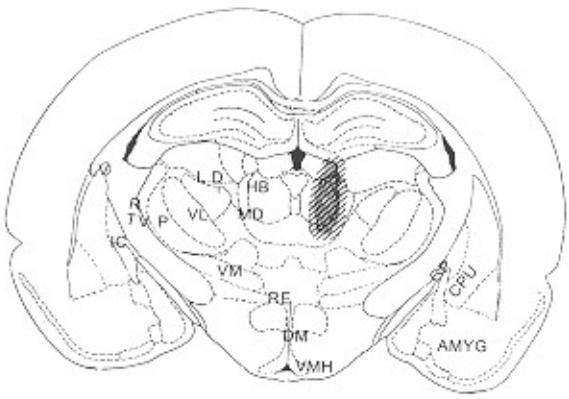
یافته‌ها

هستهٔ MD که در قسمت قدامی تالاموس قرار دارد از قسمت پشتی آن توسط استر یا مدولاریس و از سمت طرفی شکمی به‌وسیلهٔ IML[2] محدود شده است.

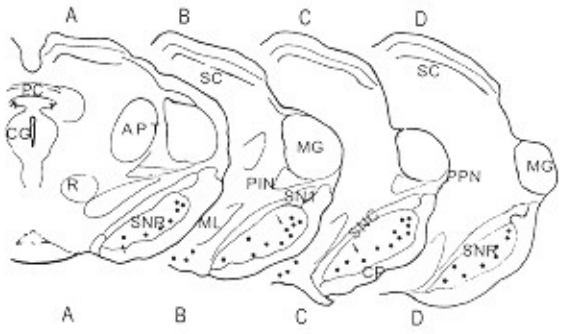
کنارهٔ میانی این هسته توسط هستهٔ IMD[3] از هستهٔ همنایش در سمت دیگر جدا می‌شود (شکلهای ۱، ۲، ۳، یکی از نمونه‌هایی که تزریق در آن صورت گرفته است را نشان می‌دهد).

مختصاتی که برای این نمونه با استفاده از اطلس پاکسینوس انتخاب گردید عبارتند از (H=۶ و ۸/۵، L=۰/۶، AP=-۳/۴) که پس از محاسبات لازم این مختصات (H=۴۰/۳ و ۴۰/۱، L=۳۱/۳، AP=۱۲/۶) برای تزریق نهایی انتخاب شد، همانگونه که ملاحظه می‌شود در ارتفاعات گوناگونی تزریق را انجام داده‌ایم و برای رسیدن به این هسته از ساختمانهای کورتکس، هیپوکامپ و هابنولا می‌گذریم. همان‌طوری‌که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، تزریق در این هسته منجر به نشاندار شدن نورونهای جسم سیاه در همان طرف شد.

برخی از سلولهای نشاندار شده کمرنگ بودند و پراکندگی نورونها در طول قسمت شکمی SNR مشهود بود (مقاطع A تا D) اما تجمع آنها در قسمت جانبی SNR و در قسمت میانی هسته بیشتر بود (مقاطع B و C). ضمناً برخی از سلولها در قسمت VTA[4] در نزدیکی هسته‌های بین پایکی و خروجی زوج III نیز نشاندار شدند (مقاطع B و C). در قسمت SNC هسته سیاه، هیچ نورونی را مشاهده ننمودیم. کلیه نورونهای نشاندار به‌صورت Ipsilateral مشخص شدند و در سمت مقابل مکان تزریق هیچ سلولی که حاوی رسوبات HRP باشد مشاهده نشد. با استفاده از روش ذکر شده میانگین تعداد نورونهای نشاندار شده ناشی از تزریقات HRP در این هسته معادل ۱۶۸ نورون بود. سلولهای نشاندار شده از نظر اندازه، متوسط و از نظر شکل، هرمی، مثلثی و معمولا چند قطبی بوده‌اند.



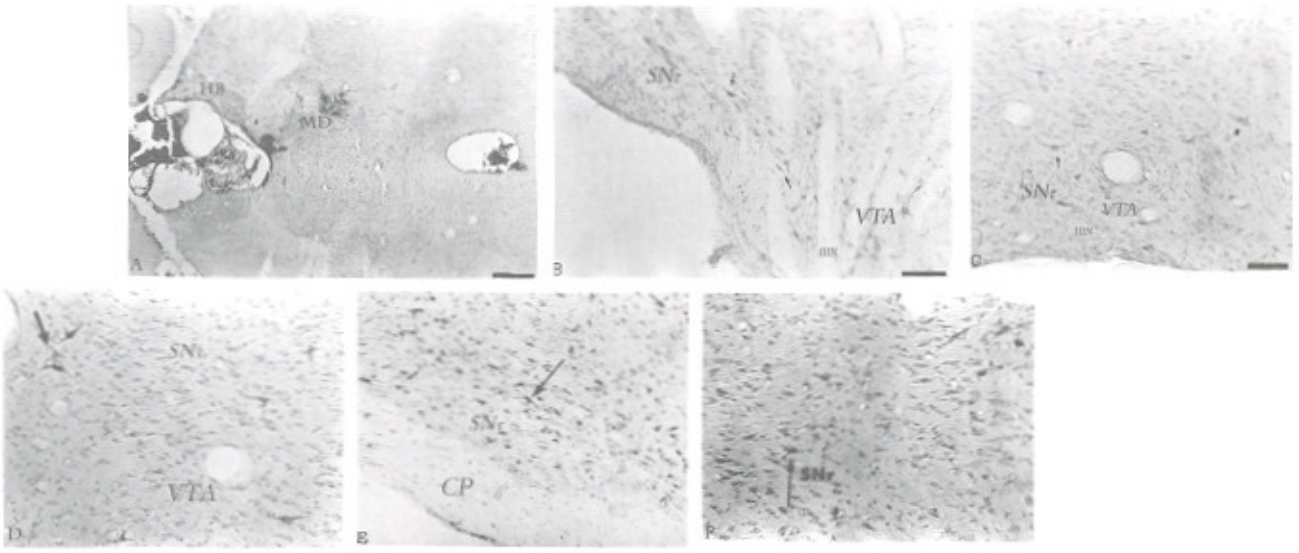
Bregma -3.14



Bregma: A=-4.80 B=-5.30 C=-5.80 D=-6.04

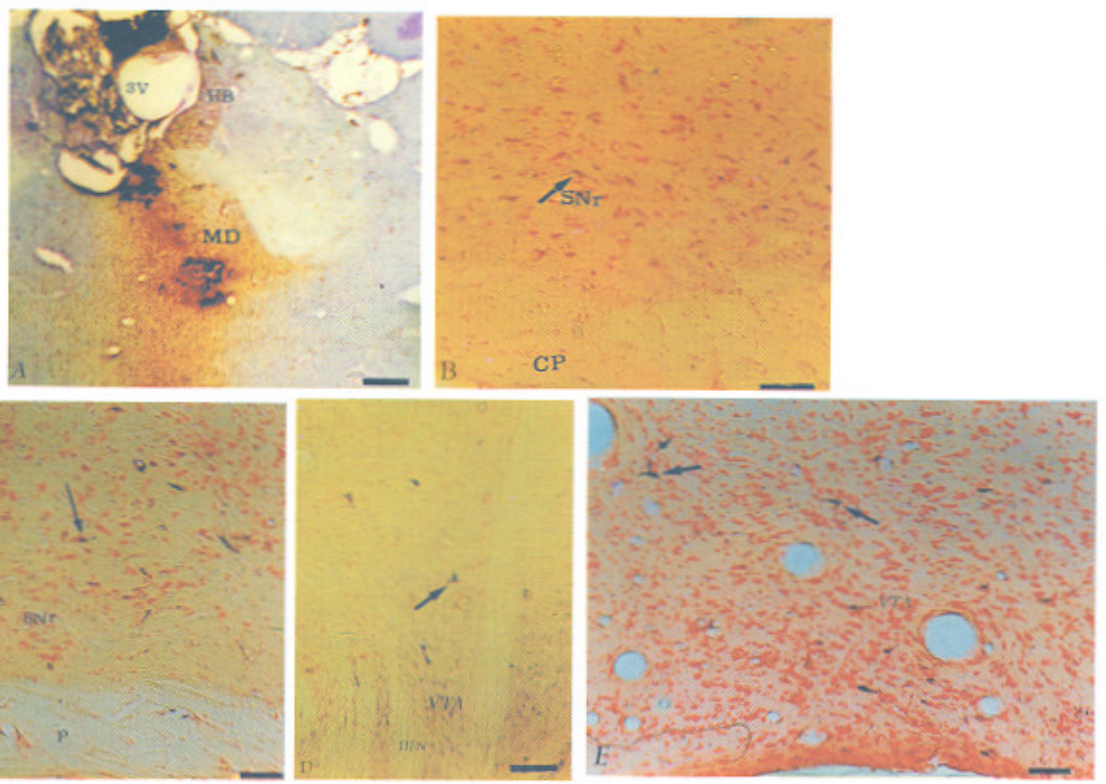
شکل ۱: چگونگی توزیع سلولهای نشاندار به‌صورت یکطرفه در ماده سیاه به‌دنبال تزریق HRP در هسته MD (هاشور)
برگشی مقاطع جسم سیاه از جهت سری به سمت دمی هسته است. تجمع نورونهای نشاندار در قسمت میانی هسته (مقاطع B و C) بیشتر بوده و در جهت دمی کاهش می‌یابد. به محل نشاندار شدن VTA توجه شود. هیچ سلولی در قسمت SNC نمایان نشد. یک میکرومتر Scale bar A-D

1. Neutral red
2. Intermedulary Lamina
3. Intermediodorsal thalamic nucleus
4. Ventral tegmental area thalamic nucleus



شکل ۲: A: فتومیکروگرافهای سیاه و سفید مربوط به نژریق HRP در هسته MD (از نگاتیو رنگ‌آمیزی A کریزل ویولت، B-F نوترال رد، بزرگنمایی ۴۰×، ۱۰۰ میکرومتر =Scale bar: A-D)

سلولهای نشاندار با پیکان نشان داده شده‌اند. شکل نورونها که از نظر اندازه متوسطند، به شکل هرمی یا مثلثی مشخص هستند. B: سلولهای نشاندار شده در مسیر زوج III، C و D: سلولهایی با ضمایم مربوطه



شکل ۳: فتومیکروگرافهای مربوط به نژریق انژیم در هسته MD. E: سلولهایی با ضمایم مربوطه

پیکانها برخی سلولهای نشاندار شده توسط HRP را نشان می‌دهند. (رنگ‌آمیزی A کریزل ویولت، B-F نوترال رد، بزرگنمایی ۴۰×، ۱۰۰ میکرومتر =Scale bar: A-D)

بحث

در این مطالعه همانگونه که مشاهده می‌شود ما شاهد یک ارتباط قوی جسم سیاه با هسته MD تالاموس می‌باشیم و معلوم شد که نورونهای قسمت شکمی ـ طرفی بخش متراکم جسم سیاه (SNR) وابرانهای زیادی بسوی این هسته دارند. در این بررسی نشان داده‌ایم که نورونهای مسئول این ارتباط چند قطبی و از نظر اندازه عمدتاً متوسط و کوچک هستند. از نظر ارتباط، یافته‌های ما همانند نتایج حاصله از برخی مطالعات گذشته در مغز موش (۱۱، ۷، ۹، ۸، ۱۲) و گربه (۱، ۱۳) و میمون (۱۴، ۱۵، ۱۶) که به وابرانهای جسم سیاه به هسته MD تالاموس اشاره شده است، می‌باشد. هر چند که در این گزارشات به تجمع

نورونهای مرتبط با هسته MD در مناطق فوق کمتر اشاره نموده‌اند از این رو با توجه به وجود آورانهای زیادی که از جسم سیاه مغز میانی به هسته MD تالاموس ختم می‌شوند و نیز نظر به وجود ارتباط دوطرفه این هسته با کورتکس پری فرونتال (۱۵) و نیز سیستم لیمبیک می‌توان ماده سیاه را حلقه‌ای ارتباطی بین سیستم لیمبیک و سیستم خارج هرمی دانست. در مطالعاتی که با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (EM) صورت گرفته است مشخص گردیده است که سیناپس رشته‌های نیگروتالامیک با هسته MD از نوع enpassant و سیناپسها از نوع اکسودندیتیک و اکسوسوماتیک می‌باشد (۱۶) و معلوم گردیده است که وابرانهای جسم سیاه به این هسته عمدتاً در قسمت جانبی دمی هسته MD توزیع می‌شوند و قسمت میانی این هسته آوران کمتری از جسم سیاه را دریافت می‌دارند.

قابل توجه اینکه محل ختم رشته‌های مهاری جسم سیاه به هسته MD همانجایی است که وابرانهای تحریکی از تگستوم پشتی نیز ختم می‌شوند. چنین تأثیرات متقابل در یک هسته به‌خصوص در قسمتهای مشترک یک هسته از ویژگیهای هسته MD به‌شمار می‌رود و آن را از بقیه هسته‌های تالاموس که پایانه‌های گابالرژیک را از جسم سیاه دریافت می‌دارند متمایز می‌کند (۱۶).

Illinsky و همکارانش گزارش کردند که قسمتهای مرکزی، دمی و جانبی هسته MD، که آورانهایی از جسم سیاه را دریافت می‌دارند به نوبه خود از همانجا وابرانهایی به منطقه کورتکس پری فرونتال می‌فرستند. مطالعات الکتروفیزیولوژیک اخیر با ثبت داخل سلولی در هسته MD تالاموس و تحریک وابرانهای SNR نشان می‌دهد که SNR یک اثر مهاری بر روی نورونهایی از MD دارد که پایانه خود را به کورتکس پری فرونتال ارسال می‌نمایند (۱۵).

چنانچه ملاحظه شد ماده سیاه روی سیستم لیمبیک هم اثر دارد. نظر به این تأثیرات می‌توان به علل اختلالات توامان رفتاری و حرکتی در بسیاری از بیماریهایی که اجسام قاعده‌ای را به نوعی مبتلا می‌سازد پی برد (۸) با توجه به وابرانهای جسم سیاه به برخی از هسته‌های تالاموس به‌خصوص MD و از آنجا به کورتکس (Mesolimbocortical) به‌دنبال کاهش فعالیت نوروترانسمیتری در سیستم فوق است که بیماران پارکینسون علاوه بر اختلالات بیان شده حرکتی از نظر هوشیاری نیز دچار مشکلاتی خواهند بود، چنانچه در بسیاری از موارد بیماریهای حرکتی چون پارکینسون و آلزایمر با یکدیگر همراه می‌باشند (۳). نظر به وجود ارتباط ماده سیاه با هسته Dark Schewitsch (۱۷) و از طرف دیگر با توجه به ارتباط SN با هسته‌های MD و VANL تالامس و همچنان ارتباط این هسته‌ها با کورتکس پری فرونتال، نتایج بدست آمده با دیگر مطالعات انجام گرفته (۱۵، ۱۸، ۱۹) می‌تواند یک پایه آناتومی برای مکانیسم فیزیولوژی کنترل حرکات چشم و نیز هماهنگی حرکات دست با سر و چشم ایجاد نماید. زیرا این هسته‌های تالاموس ضمن دریافت آورانهایی از برجستگیهای فوقانی، خود با منطقه ۸ کورتکس در ارتباطند و نیز ممکن است به‌علت وجود چنین ارتباطی، فعالیت عضلات خارج حدقه‌ای چشم در حین حرکات Saccadic مهار بشود (۱۷). به‌عبارت ساده‌تر مسیر عصبی از کورتکس پیشانی و آهیانه آغاز می‌شود و با عبور از جسم سیاه نهایتاً از طریق هسته MD تالاموس به منطقهٔ ۸ کورتکس یا Frontal eye Field ختم می‌شود. این راه، مسیری است که حرکات ارادی چشم را کنترل می‌نماید (۱، ۲۰، ۲۱).

References

1. Kemel M, Desban M, Gauchy C, Glowinski J, Besson MJ: Topographical organization of efferent projection from the cat substantia nigra pars reticulata. Brain Res 1988; 455: 307-323

2. Pairier LJ, Giguere M, Marchand R: Comparative morphology of the substantia nigra and ventral tegmental area in the monkey, rat & cat. Brain Res 1983; 11: 371-379

3. Van domburg PHMF, Tendon kelaar HJ: The human substantia nigra & ventral tegmental area a neuroanatomy study with notes on aging diseases. speringer Verlag 1991

4. Perese DQ: A6-Hydroxydopamin induced selective patkinsin rat model. Brain Res 1989; 494: 285-293

5. Bentinoglio M, Vander Kooy D, Kupers J: The organization of the effetent projection of the substantia nigra in the rat, a retrograd fluorescent doubel labeling study. Brain Res 1990; 174: 1-17

6. Faull RLM, Mehler WR: The cells of the origin of nigrotectal, nigrothalamic & nigrostriatal projection in the rat. J Neurosci 1978; 3: 989-1002

7. Deniau JM, Chevalier G: The lamellar organization of the rat substantia nigra pars reticulata, distribution of projection neurons. j Neurosci. 1992; 46: 361-377

8. Gerfen C, Stanes W, Arbuthnott G, Filiger H: Crossed connention of the substantia nigra in the rat. J Comp Neurol 1982; 207: 283-303

9. Paxinos G, Watson C: The rat brain stereotaxic coordinates. 2nd ed. Academic press 1986; 2: 353-368

10. Koingsmark: Contemporary research methods in neuroanatomy. NAUT WJH, Ebbessons OE (eds). Springer-Verlag, 1970, pp 314-340

11. Beckstead R, Domesick V, Nauta W: Efferent connection of the substantia nigra and ventral tegmental area in the Brain Res 1979; 175: 191-217

12. Gonzali Rwiz A, Alonso A, Sanz JM: A dopaminergin projection to the rat mammillary nuclei demonstrated by retrograd transport of WGA-HRP &

thyrosion hydroxylase, immunohistochemistry. J Comp Neurol 1992; 321: 311-330
13. Delas-Heras S, Mengual E, Gimenea Amaya JM: Thalamostriatal and nigrothalamic projections in cats. Neuroreport 1998; 9(8): 1913-1916
14. Carpenter M, Nakano K, Kim R: Nigro thalamic projection in the minkey demonstrated by Autoradiographic technique. J Comp Neurol 1976; 165: 401-416
15. Ilinsky IA, Jouandet MI, Goldman Y, Rakie PS: Organization of the nigro thalamocortical system in the Rhesus monkey. J Comp Neurol 1985; 236: 315-330
16. Kurada M, Price JL: Utracellular and synaptic organization of axon terminal from brainstem structure to the mediodorsal (MD) thalamic nucleus of the rat. J Comp Neurol 1991; 313: 539-552
17. Onodera S, Hichs TP: Projections from substantia nigra and zona incerta to the cats nucleus of Darkschewitsch. J Comp Neurol 1998; 396(4): 461-82
18. Behzadi G, Mehdizadeh M: Nigrothalamic projection, a retrograde tracing study in the rat Abstract book of 2nd Iranian anatomical sciences congeress. 1994
19. Sakaii S, Patton K: Distribution of cerebellothalamic & nigrothalamic Projection in the dog a doubel antrograde tracing study. J Comp Neurol 1993; 330: 183-194
20. Brodal A: Neurological Anatomy, 3 ed, Oxford University press, 1992, pp 246-261
21. Grabiel AM: Neurotransmitter and neuromodulator in the basal ganglia. Trends Neurosci 1990; 13(7): 244-253