



122  
2ej  
Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGIA

Implante de Globo Ocular en el Lóbulo Occipital de Rata Recién Nacida.

T E S I S

Que para obtener el título de

B I O L O G A

P r e s e n t a

FLOR DE GUADALUPE MARQUEZ MENDIOLA

*Director de Tesis.*

**JULIO SOTELO MORALES**

México, D.F.

1991

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

páginas

RESUMEN.....	1
TRANSPLANTES EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.....	2
TRANSPLANTES DE RETINA.....	4
HISTOLOGIA DEL OJO.....	8
VIA VISUAL.....	18
HIPOTESIS Y OBJETIVO.....	24
METODOLOGIA.....	25
RESULTADOS.....	28
DISCUSION.....	46
CONCLUSIONES.....	49
APENDICE.....	50
BIBLIOGRAFIA.....	57

## RESUMEN.

El sistema visual posee varias características; tiene un limitado número de neuronas, todas en el mismo plano de la retina, una sola vía de comunicación centripeta a través del nervio óptico y tanto la vía óptica como el sitio de terminación de sus proyecciones axonales en la corteza son conocidas. La vía óptica posee varios relevos antes de terminar en su efector final en la corteza visual en el lóbulo occipital; teóricamente es posible eliminar dichos relevos y unir directamente las áreas receptoras visuales con la corteza visual. En base a esto, y considerando que el tejido nervioso inmaduro no sólo sobrevive al trasplante, sino que frecuentemente desarrolla conexiones fibrilares con el hospedero, se investigó la posibilidad de hacer autoimplantes de ojo con un pequeño segmento de nervio óptico en el lóbulo occipital derecho de rata de ocho días de edad y aloimplantes de 18-19 días de gestación en ratas de igual edad a las autoimplantadas, y estudiar con métodos histológicos el desarrollo de proyecciones nerviosas a partir del nervio óptico del globo ocular hacia la corteza visual.

Los resultados muestran que en algunos implantes hay una adhesión de estos al tejido cerebral, también se observaron regiones de intensa fagocitosis alrededor de los mismos, algunos implantes poseen en su interior apariencia gelatinosa, semejante a la que presenta el humor vítreo. No se apreció formación ni penetración evidente de fibras nerviosas al implante.

Las dificultades para obtener viabilidad del tejido implantado parecen ser debidas a diversas variables experimentales como la localización, vascularización y tamaño del implante, así como la forma en que el globo ocular fué implantado quirúrgicamente.

## INTRODUCCION.

### TRANSPLANTES EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

El uso de transplantes es una valiosa herramienta para el estudio del desarrollo del sistema nervioso, para el análisis del crecimiento y diferenciación neuronal, y para estudios de regeneración y formación de nuevas conexiones (Bjorklund, 1984; Matthews, 1982). Al respecto, se ha trabajado en anfibios y otros vertebrados no mamíferos, cuyo sistema nervioso exhibe gran capacidad regenerativa (Bjorklund, 1984; Constantine-Paton, 1976 y 1978; Katz, 1978). El uso de transplantes como método experimental para examinar los mecanismos en el desarrollo cerebral en mamíferos fué utilizado inicialmente por investigadores como Saltykow (1905), Ranson (1914) y Dunn (1917), advirtiendo esta última que el éxito en la gran mayoría de los implantes se debía a que estos presentaban gran cantidad de vasos sanguíneos.

En 1940 le Gros Clark confirmó la importancia del suministro sanguíneo y demostró que el transplante de tejido nervioso fetal sobrevivía mucho más tiempo (Bjorklund, 1984). En 1971 Sopal D. Das y Joseph Altman demostraron que el tejido nervioso fetal puede sobrevivir, madurar y establecer conexiones con el cerebro hospedero (Lund, 1987) y establecieron en experimentos posteriores, que el tejido cerebral fetal transplantado tiene grandes posibilidades de sobrevivir, pues las neuronas se encuentran en la etapa de multiplicación y migración antes de proyectar sus axones y dendritas.

Varias estructuras cerebrales fetales en mamíferos, pueden ser transplantadas exitosamente al cerebro de ratas tanto recién nacidas como adultas. En ambos casos los implantes desarrollan características morfológicas e histoquímicas propias; así mismo se ha demostrado que producen neurotransmisores como dopamina,

acetilcolina, norepinefrina y serotonina, además de hormonas como vasopresina y gonadotropina (Turner, 1986 y 1988). En los implantes de tejido fetal a rata recién nacida, algunas fibras específicas poco mielinizadas o sin mielinizar, en especial fibras colinérgicas, tienen en el cerebro una considerable capacidad de regeneración cuando hay una lesión discreta (Freed, 1988). El tejido tectal de fetos de ratas de 15 días de gestación implantado directamente sobre el mesencéfalo de ratas recién nacidas crece y madura en el hospedero, y recibe proyecciones de varias regiones del cerebro (Harvey, 1988; Lund, 1976). En el caso de implante de tejido fetal en ratas adultas, el tectum y corteza fetal, sobreviven y crecen, pero el grado de diferenciación es mucho menor que en los trasplantes a ratas recién nacidas (Mc Loon, 1983).

La cámara anterior del ojo de rata, es otro sitio donde el implante de tejido nervioso es exitoso, y puede permanecer casi indefinidamente (Del Cerro, 1987; Turner, 1988).

## TRASPLANTES DE RETINA.

El trasplante de retina fetal se ha probado con éxito, tanto en cerebro de rata recién nacida como en animales adultos. Cuando es implantada a ratas recién nacidas, ya sea intacta o cultivada, no sólo sobrevive y se diferencia, sino que desarrolla numerosas proyecciones al colículo superior con proyecciones que exhiben una alta especificidad axonal a los núcleos que normalmente son retino-recipientes (Hankin, 1987; Mc Loon, 1980), de igual manera cuando la retina se implanta al colículo superior de ratas adultas también se desarrollan proyecciones, pero estas son menos extensas, el número de células fotorreceptoras se encuentra disminuido y se llegan a encontrar en pequeños grupos, también hay fusión de las capas nuclear interna y externa de la retina (Mc Loon, 1983). Una posible explicación a la pobre diferenciación de los trasplantes a hospederos adultos, es que en ratas recién nacidas, estas son vascularizadas más rápidamente que en los adultos (Mc Loon, 1983). También es posible que ciertos factores específicos presentes en el sistema nervioso central fetal se encuentran reducidos o ausentes en el adulto (Mc Loon, 1983).

La retina fetal o inmadura es un tejido con gran plasticidad y capacidad de sobrevivir al estrés del trasplante en una amplia variedad de condiciones (De Cerro, 1987; Matthews, 1982; Mc Loon, 1981; Turner, 1988), por ejemplo, la retina se ha transplantado con éxito a varios sitios: al colículo superior (Mc Loon, 1983), a la corteza occipital (Matthews, 1982), y a la cámara anterior del ojo, en donde la retina del hospedero ha sido dañada previamente, ya sea mecánicamente o bien, por exposición continua a la luz con objeto de diezmar a las células fotorreceptoras, también se ha utilizado para tal propósito una inyección intraocular de ácido tánico destruyendo células

ganglionares y células amacrinas. En estas condiciones se ha observado integración de la retina transplantada a la retina del hospedero además de su diferenciación (Del Cerro, 1987; Del Cerro and Notter, 1987; Turner, 1986), mostrándose claramente las capas de células ganglionares, plexiforme interna, nuclear interna, plexiforme externa y nuclear externa (Turner, 1986). Otro de los sitios donde la retina fetal ha sido implantada con éxito es la cámara vítrea, que representa un medio ideal para la supervivencia y desarrollo normal de la retina (Turner, 1988). Varios reportes señalan que tejido nervioso dañado puede ser inducido "in vivo" a regenerar sus axones a considerables distancias por medio de puentes de nervio periférico insertado. Estos puentes han sido frecuentemente usados para analizar el potencial de regeneración del sistema nervioso central (Turner, 1986).

Algunos reportes señalan que el implante de nervio periférico recupera el tejido retiniano que normalmente muere secundario a una lesión (Turner, 1986 y 1988). Esto al parecer es debido a que el nervio periférico secreta factores tróficos benéficos para la supervivencia y/o regeneración tanto del sistema nervioso periférico como del sistema nervioso central (Turner, 1986).

Con la finalidad de averiguar si la retina fetal mantenía la capacidad de formar proyecciones con el cerebro hospedero varios investigadores han mantenido en cultivo retina fetal por diversos periodos de tiempo antes de su implantación observando que la retina cultivada se diferenciaba y desarrollaba características morfológicas e histoquímicas similares a la retina intacta o no cultivada, además de desarrollar proyecciones al cerebro hospedero (Harvey, 1986; Mc loon, 1981). De modo que las áreas inervadas por axones retinianos parecen ser homólogas a las regiones que normalmente son retino-recipientes del colículo superior intacto y que contiene las células blanco apropiadas, por lo que estos resultados son comparables con lo que sucede en el desarrollo normal de fibras retinianas (Bunt, 1983).

Son varios los factores que influyen la sobrevivencia, el



crecimiento y la maduración de los trasplantes neurales y la retina no es la excepción. Algunos reportes señalan que la sobrevivencia de los injertos parece depender de su revascularización por el hospedero (Turner, 1988). También se ha visto que los trasplantes de retina fetal no se desarrollan cuando el tejido es adquirido después de los 16 días de gestación (Mc Loon, 1981; Turner, 1988). Freed y Wyatt observaron sobrevivencia de los implantes sólo cuando estos eran colocados en el núcleo geniculado lateral (Freed, 1983).

Los trasplantes retinianos en ratas recién nacidas se diferencian de acuerdo a la edad del donador más que a la edad del hospedero, mostrándose que la retina al madurar muestra todas las células normales, incluyendo las capas plexiformes (Lund, 1986 y 1987). Los trasplantes colocados cerca del colículo superior inervan ambos colículos y los centros visuales localizados más rostralmente. Si un ojo es enucleado del hospedero en el momento del nacimiento, las proyecciones del trasplante al tectum denervado son más densas (Lund, 1986 y 1987). Algunos reportes han señalado que la retina transplantada tanto a ratas recién nacidas como a ratas adultas, además de desarrollar muchas de las características de la retina normal, también responden a estímulos luminosos, lo cual ha sido comprobado por estudios electrofisiológicos (Freed, 1980, 1983 y 1985; Lund, 1987; Turner, 1988). En el caso de trasplantes fetales a hospederos adultos no solo sobreviven y se diferencian, sino que también exhiben una distribución altamente específica (Lund, 1986 y 1987).

Se ha encontrado que ojos fetales transplantados al colículo superior (Freed, 1986) y al cuerpo geniculado lateral (Freed, 1980) no solo sobreviven en ratas recién nacidas y en adultas, sino que desarrollan proyecciones al colículo superior del hospedero, generando también potenciales eléctricos que pueden ser evocados a partir de los ojos implantados.

Un aspecto de gran interés es el que concierne a la capacidad de los trasplantes para sobrevivir en el cerebro sin sufrir

rechazo. Hasta hace pocos años se consideraba al cerebro como un sitio inmunológicamente privilegiado, sin embargo, estudios recientes reportan que esto no es del todo cierto (Freed, 1983). Existe al respecto una gran controversia en cuanto a la sobrevivencia de aloinjertos y xenoinjertos. En general, parece que tejido neural embrionario de ratas y ratones (aloinjertos y xenoinjertos, respectivamente), usualmente sobreviven a la implantación al sistema nervioso central por largos periodos. Al menos, con respecto a los xenoinjertos, el rechazo puede ser precipitado por colocar piel de ratón sobre el flanco de la rata que había recibido previamente trasplante de retina en el cerebro (Lund, 1986 y 1988). Lund en 1987 reportó que xenoinjertos de tejido retiniano sobrevivían cuando eran implantados en cerebros de ratas recién nacidas, siendo rechazados en ratas adultas. La trayectoria de los axones de los trasplantes en las ratas recién nacidas parece usar células gliales como guía. Así, el crecimiento en ratas recién nacidas puede estar relacionado al importante papel que juegan las células gliales en la maduración neuronal (Azmitia, 1987).

## HISTORIA DEL OJO.

El ojo es una estructura casi esférica, está contenido en la parte interior de una cavidad ósea, la órbita; entre el globo ocular y la pared ósea de la órbita hay grasa, tejido conectivo, ligamentos, músculos y tejido glandular que produce líquido lacrimal (Ham, 1986). El componente esencial es la retina, la capa nerviosa interna que reviste la mitad posterior del globo ocular (Lesson, 1987) (fig. 1).

La pared del globo ocular tiene tres capas. La capa externa o túnica fibrosa, forma la esclerótica y la córnea. La capa media, túnica vascular pigmentada o capa uveal, incluye coroides, el cuerpo ciliar y el iris. La capa interna o túnica nerviosa que es la retina contiene elementos neurales sensibles a la luz que sirven como receptores del sentido visual. Por medio de un sistema óptico compuesto por diafragma o iris y varios medios refringentes córnea, humor acuoso, cristalino y humor vítreo captan las imágenes del mundo exterior sobre los receptores retinianos. Estos transforman las imágenes en impulsos nerviosos, los cuales son a su vez transmitidos por nervios especiales a la corteza visual (Reck, 1977) (fig. 1).

### TUNICA FIBROSA.

Esta capa externa formada por la esclerótica y la córnea, proporciona sosten fibro-elástico resistente al ojo.

Esclerótica.- Esta compuesta por tejido conectivo denso, que conserva la forma y el tamaño del ojo (Lesson, 1987). Tiene un grosor de 0.3-1 mm (Rhodin, 1974), es blanca y resistente formada por haces de fibras colágenas entre los cuales hay fibroblastos aplanados. Hay algunas fibras elásticas mezcladas con las colágenas (Ham, 1986). La capa más externa, el tejido episcleral,

es un tejido fibroelástico laxo que se continúa por fuera con el tejido fibroso denso de la cápsula de Tenon. Entre la esclerótica propiamente dicha y la coroides hay una capa delgada, la lámina fusca con haces colágenos pequeños, fibras elásticas y melanocitos. Hacia atrás, la esclerótica está perforada por las fibras del nervio óptico, esta área en forma de disco es llamada lámina cribosa (Lesson, 1987).

**Córnea.**— Es la parte anterior de la capa de sostén del ojo. Es transparente y avascular, consiste principalmente de tejido conectivo denso de 0.5 a 1 mm de grosor (Ham, 1986). Es el principal elemento refractario del ojo. La unión esclero-corneal es llamada limbo y marca el área donde la esclerótica opaca se vuelve la córnea transparente. Dentro de esta región se encuentra el canal de Schlemm. Este canal drena el humor acuoso de la cámara anterior del ojo (Rhodin, 1974).

La córnea desde el punto de vista histológico consta de cinco capas:

**Epitelio.**— Es la capa externa de tipo plano estratificado no queratinizado, de 50 a 70  $\mu\text{m}$  de grosor. Este epitelio es muy sensible por sus abundantes terminaciones nerviosas libres (Lesson, 1987).

**Membrana de Bowman.**— Tiene 8  $\mu\text{m}$  de grueso, es acelular, contiene distribuida el azar colágena y fibras reticulares (Lesson, 1987).

**Sustancia propia.**— Constituye la mayor parte de la córnea (90 %), es transparente y esta formada por laminillas colágenas y células (Lesson, 1987).

**Membrana de Descemet.**— Presenta un aspecto elástico homogéneo, tiene un espesor de 5-10  $\mu\text{m}$  (Rhodin, 1974).

**Endotelio.**— Es una capa simple de células cúbicas que reviste la superficie interna de la córnea (Lesson, 1987).

## **TUNICA VASCULAR (UVEAL).**

Consta de la coroides, el cuerpo ciliar y el iris, en todos ellos son notables los vasos sanguíneos.

**Coroides.**- Es una membrana esponjosa de color pardo. Tiene alrededor de 0.1 a 0.3 mm de grueso. Suelen identificarse cuatro capas en ellas:

**Epicoroides.**- Es la capa externa mide de 20 a 30  $\mu\text{m}$  de grosor y consta de fibrillas colágenas y elásticas. Presenta gran cantidad de melanocitos (Lesson, 1987).

**Capa Vascolar.**- Es la capa más gruesa de la coroides y consta de muchas arteriolas y vénulas incluidas en tejido conectivo laxo que contiene muchos melanocitos (Lesson, 1987).

**Coriocapilar.**- Es una capa delgada de capilares con endotelio fenestrado, esta red capilar provee a las células fotorreceptoras de la retina con oxígeno y nutrientes. Entre los capilares hay una red de fibras elásticas y colágenas (Rhodin, 1974).

**Membrana de Bruch.**- Se localiza en la parte interna, entre la coriocapilar y el epitelio pigmentado de la retina (Lesson, 1987). tiene de 1-2  $\mu\text{m}$  de grosor. Consiste de una red de fibras elásticas (Rhodin, 1974).

**Cuerpo ciliar.**- Es un anillo fibromuscular representando una continuación directa de la coroides. Sirve como la unión para los ligamentos suspensorios de los lentes y contiene músculo liso. También contiene una red capilar que participa en la producción del humor acuoso. El cuerpo ciliar consiste de una parte externa (uveal) derivada de mesodermo y una parte interna (retinal) originada de neuroectodermo. la parte externa consta de músculo ciliar y estroma, y la parte interna de epitelio ciliar (Rhodin, 1974).

**Músculo ciliar.**- Comprende tres capas de fibras musculares lisas con su origen común en el espón de la esclerótica y el

**ligamento pectíneo.** Las fibras tienen orientación meridional, radiada y ecuatorial, y funcionan en la acomodación del cristalino (Lesson, 1987).

**Estroma ciliar.**- Consiste de tejido conectivo, con muchos fibroblastos y melanocitos, es ricamente vascularizado, consiste de capilares con endotelio fenestrado y vénulas (Rhodin, 1974).

**Epitelio ciliar.**- Es una capa no pigmentada, tiene superficie irregular y representa la prolongación anterior de la retina nerviosa (Lesson, 1987).

**Iris.**- Es la parte más anterior del tracto uveal, es una delgada capa anular, su borde externo está unido al cuerpo ciliar, su borde interno bordea la pupila. La placa del iris consiste de un estroma de tejido conectivo laxo, músculo liso, melanocitos y células epiteliales pigmentadas. Funciona como un diafragma ajustable el cual controla la cantidad de luz que entra al interior del ojo (Rhodin, 1987).

#### **CÁMARAS DEL OJO.**

**Cámara anterior.**- Es el espacio que se encuentra limitado adelante por la cara posterior de la córnea y por atrás por el cristalino, el iris y la superficie anterior del cuerpo ciliar (Lesson, 1987).

**Cámara posterior.**- Esta limitada hacia adelante por el iris, hacia atrás por la cara anterior del cristalino.

Ambas cámaras contienen el humor acuoso, líquido secretado por el epitelio ciliar y por difusión a partir de los capilares de los procesos ciliares. Tiene un contenido bajo en protefina. Es secretado en forma continúa hacia la cámara posterior, pasa a la cámara anterior a través de la pupila y drena por el conducto de Schlemm (Lesson, 1987).

## CRISTALINO.

Es una lente biconvexa cuya cara posterior presenta mayor curvatura que la anterior. En el sujeto joven el cristalino es elástico, pero se endurece con la edad. Con respecto a su estructura tiene tres componentes: Cápsula del cristalino, es una estructura elástica y contiene glucoproteínas y colágena tipo IV. Epitelio subcapsular, se encuentra sólo en la cara anterior, bajo la cápsula, compuesto de células cúbicas, estas células se alargan y se transforman en las mencionadas fibras del cristalino. Sustancia del cristalino, esta formada por las fibras del cristalino dispuestas de manera concéntrica, superficialmente, en la corteza las fibras más jóvenes contienen núcleos y algunos organelos; en la parte central, las fibras más antiguas pierden sus núcleos y aparecen homogéneas. El cristalino es avascular y se mantiene en su sitio por medio de un ligamento suspensor o zónula (Lesson, 1987).

## CUERPO VITREO.

Es un gel claro y transparente que llena el espacio entre la retina y el cristalino, contiene glucosaminoglucanos hidratados, en especial ácido hialurónico, y fibrillas colágenas en una fina red. También conserva la forma y la turgencia del ojo (Lesson, 1987).

## TUNICA NERVIOSA O RETINA.

La retina es una estructura formada por dos partes. la porción externa adyacente a la coroides es el epitelio pigmentado, mientras la porción interna adyacente al vítreo, es la retina neural. Aunque contiene cientos de millones de células, son solo cinco tipos básicos los que están involucrados en el

procesamiento de la información visual. Las células fotorreceptoras estimuladas por la luz, proyectan a la primera zona sináptica, y terminan en las células bipolares y horizontales. Las células bipolares entonces proyectan a la siguiente zona sináptica, mientras las células horizontales que se extienden lateralmente se conectan a receptores, células bipolares y a otras células horizontales. En la segunda zona de sinapsis, las células bipolares terminan en las células ganglionares y células amacrinas. Los axones de las células ganglionares abandonan el ojo como el nervio óptico (Nolte, 1981).

#### Capas Retinianas.

La retina se compone de diez capas (fig.2), cinco de estas capas son cuerpos celulares y sinapsis. El término nuclear se refiere a los cuerpos celulares y el término plexiforme a las zonas sinápticas (Nolte, 1981).

1.-Epitelio pigmentado: Es una capa única de células poligonales pigmentadas. Estas células epiteliales están involucradas metabólicamente con los receptores (Nolte, 1981), además absorben la luz y evitan su reflexión (Lesson, 1987).

2.-Capa de bastones y conos: Son dos diferentes tipos de fotorreceptores. Cada uno consiste de varias regiones: un segmento externo, un segmento interno, un cuerpo celular y una terminal sináptica. Estrictamente hablando, bastón o cono se refiere solo al segmento externo más el segmento interno de la célula fotorreceptora. El segmento externo de un bastón es relativamente largo y cilíndrico, mientras que el de un cono es más corto y afilado. Cada tipo de segmento externo está lleno de sacos membranosos o discos. La principal proteína que constituye las membranas del segmento externo de conos y bastones es el pigmento visual, llamado rodopsina. Cada segmento externo está



conectado a un segmento interno por un cilindro estrecho. Los segmentos internos contienen entre otros organelos, grandes cantidades de mitocondrias, encargadas de suministrar la energía necesaria para los procesos asociados con la transducción y síntesis de pigmentos visuales; estos pigmentos continuamente se renuevan, siendo sintetizados por el segmento interno, transportados a través del cilindro ciliar e incorporados a los discos. Los discos "viejos" en los extremos apicales de los segmentos externos de los bastones (y probablemente conos) son fagocitados por el epitelio pigmentado. Los bastones son considerablemente más sensitivos que los conos y son los receptores utilizados para captar la luz tenue. Hay un solo tipo de bastones en la retina, así la visión al color no es posible cuando solo los bastones están activados (Nolte, 1981).

3.-Membrana limitante externa: Formada por abundantes complejos de unión entre las células de Müller y los fotorreceptores.

4.-Capa nuclear externa: Consiste de los cuerpos celulares de conos y bastones.

5.-Capa plexiforme externa: En esta capa los axones de bastones y conos hacen sinapsis con las células bipolares y horizontales.

6.-Capa nuclear interna: Contiene los núcleos de las células bipolares, de Müller, horizontales y amérrinas.

7.-Capa plexiforme interna: En esta capa los axones de las células bipolares forman sinapsis con las células ganglionares.

8.-Capa de células ganglionares: Contienen los cuerpos celulares de células ganglionares.

9.-Capa de fibras nerviosas: Consiste en los axones de las células ganglionares.

10.-Membrana limitante externas Consiste en las terminaciones de las prolongaciones de las células de Müller y la membrana basal correspondiente.

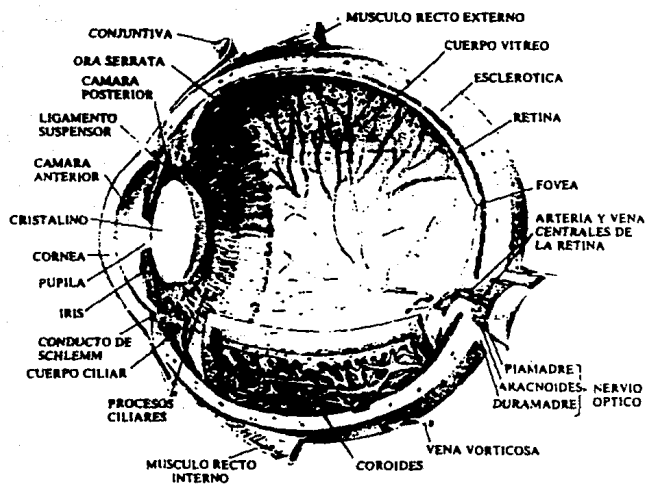


Fig. 1 Esquema del ojo en corte horizontal.  
 (Tomado de Stratton, 1984).

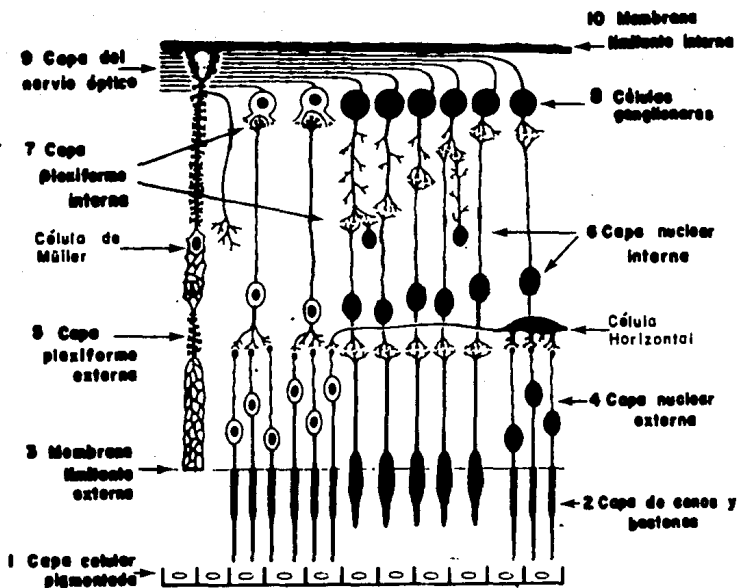


Fig. 2 Esquema que muestra las 10 capas de la retina. (Tomado de Junqueira, 1981).

## VIA VISUAL.

Los axones de las células ganglionares viajan por el nervio óptico al quiasma óptico, donde experimentan una decusación parcial y entran al tracto óptico. La mayoría de las fibras de cada tracto óptico terminan en el núcleo geniculado lateral, el cual es un relevo talámico para la visión. Las fibras provenientes del núcleo geniculado lateral viajan a través de la capsula interna y corona radiata a la corteza visual primaria en la fisura calcarina. Además un considerable número de fibras del tracto óptico proyectan al cerebro medio y unas pocas al hipotálamo (Nolte, 1981).

### Nervio Óptico, Quiasma y Tracto.

Los axones no mielinizados de células ganglionares se reúnen en el disco óptico, penetran la esclera en una región llamada lámina cribosa, y adquieren vainas de mielina formando el nervio óptico. Justo anterior al pedúnculo infundibular, los dos nervios ópticos parcialmente decusan en el quiasma óptico. Todas las fibras de la mitad nasal de cada retina cruzan el tracto óptico contralateral, todas las fibras de la mitad temporal de cada retina pasan a través de las porciones laterales del quiasma sin cruzar y entran al tracto óptico ipsilateral. El resultado es que cada tracto óptico contiene las fibras de la retina temporal del ojo ipsilateral y la retina nasal del ojo contralateral. Esta parcial decusación es apropiada para distribuir toda la información del campo visual contralateral a cada tracto óptico (Nolte, 1981) (fig. 3).

### Núcleo Geniculado Lateral.

El tracto óptico se curva posteriormente alrededor del pedúnculo cerebral, y la mayoría de sus fibras terminan en el núcleo geniculado lateral (NGL).

Este es un núcleo de seis capas en forma de domo, en el cual las fibras ópticas terminan en un patrón retiniano preciso. El patrón es casi el mismo en cada capa. Sin embargo, cada capa recibe entrada de un solo ojo: capas uno (más inferior), cuatro y seis (más superior) del ojo contralateral y capas dos, tres y cinco del ojo ipsilateral (Nolte, 1981).

#### Radiación Óptica.

Las fibras que entran al NBI proyectan a través de partes retrofocales y subfocales de la cápsula interna, se curvan alrededor de la pared lateral del ventrículo lateral, y terminan en la corteza adyacente a la fisura calcarina. La radiación óptica es a menudo llamada tracto geniculocalcarino, reflejando su origen y terminación. No todas estas fibras pasan directamente hacia atrás, en el lóbulo occipital, algunas forman una capa amplia cubriendo gran parte de las astas posteriores e inferiores del ventrículo (Nolte, 1981) (fig.4).

La organización retiniana se mantiene en la radiación óptica, las fibras representando campos visuales inferiores son más superiores, mientras aquellos que representan campos visuales posteriores se curvan más allá del lóbulo temporal. La vía visual está más dispersa en la radiación óptica que en otros lugares y las fibras individuales aun llevan información de un solo ojo (Nolte, 1981).

La vía visual termina en la corteza occipital arriba y abajo de la fisura calcarina (área 17). Los campos visuales inferiores proyectan a la corteza, arriba de la fisura calcarina y campos superiores a la corteza, debajo de la fisura. La mácula está representada más posteriormente y los campos periféricos más anteriormente. Numerosas fibras mielinizadas ramifican dentro de esta corteza en una capa discreta que puede ser vista como una tira blanca y delgada (línea de Gennari), de aquí que la corteza visual primaria también sea llamada corteza estriada (Nolte, 1981).

La corteza estriada corre paralela a la fisura calcarina y se extiende a una distancia muy corta de la superficie posterior del lóbulo occipital, esta se encuentra rodeada por el área 18, la cual esta a su vez rodeada por el área 19, y las dos juntas comprenden casi todo el resto del lóbulo occipital. Las áreas 18 y 19 son comúnmente referidas como corteza visual de asociación y están interconectadas con el área 17 (Nolte, 1981).

#### Colículo Superior (CS).

Todos los vertebrados poseen dos vías visuales paralelas, una involucra al NGL y otra involucra al CS. En vertebrados inferiores la vía colicular o tectal es más importante, pero en primates es a la inversa, sin embargo, la entrada principal al CS de primates es aún visual, una alcanzando la retina y la segunda en la corteza estriada. La entrada retinal consiste en numerosas fibras en cada tracto óptico que se desvian al núcleo geniculado, pasan por el núcleo geniculado medial en un paquete llamado brachium del CS y terminan en el CS, muchas de estas fibras son colaterales de axones que terminan en el NGL. La entrada cortical consiste de células en el área 17 que proyectan al CS. Además de las entradas visuales, el CS recibe entradas somatosensoriales (tracto espinotectal), entradas auditivas que provienen del colículo inferior y, entradas adicionales de varias áreas de la corteza (Nolte, 1981).

Conexiones eferentes del CS incluyen proyecciones a la formación reticular, el colículo inferior y médula espinal (tracto tectoespinal). El CS también manda proyecciones al talámo posterior, al NGL y al núcleo pulvinar, el cual proyecta a las áreas 18 y 19, es decir a la corteza visual de asociación (Mover, 1983; Nolte, 1981; Stratton, 1984).

Como podemos ver en el sistema visual, la retina representa un tejido ideal para estudios de transplante debido a sus características como es el tener un limitado número de neuronas

en un mismo plano, así como una sola vía de comunicación centrípeta, el nervio óptico; y donde además el sitio de terminación de sus proyecciones axonales es conocido (Freed, 1983).

La vía visual posee varios relevos antes de terminar en su efector final, la corteza visual en el lóbulo occipital. Es posible teóricamente eliminar dichos relevos y unir directamente las áreas receptoras visuales con la corteza visual. Nuestro interés consistió en implantar globo ocular tanto fetal como de rata recién nacida con un pequeño segmento de nervio óptico en el lóbulo occipital derecho de rata de ocho días de edad y estudiar con métodos histológicos, el desarrollo de proyecciones nerviosas a partir del nervio óptico del globo ocular implantado hacia la corteza visual.



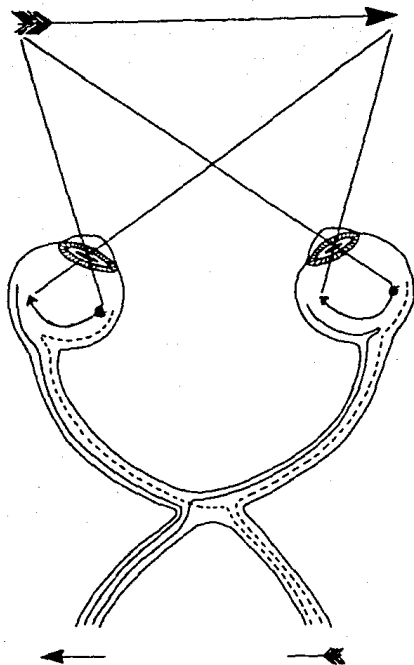


Fig. 3 Diagrama que ilustra la formación del quiasma y tracto. Toda la información del lado temporal entra al tracto óptico ipsilateral; toda la información del lado nasal cruza el quiasma óptico y entra al tracto óptico contralateral. El resultado es que cada tracto óptico "ve" el campo visual contralateral. (Tomado de Nolte, 1981).

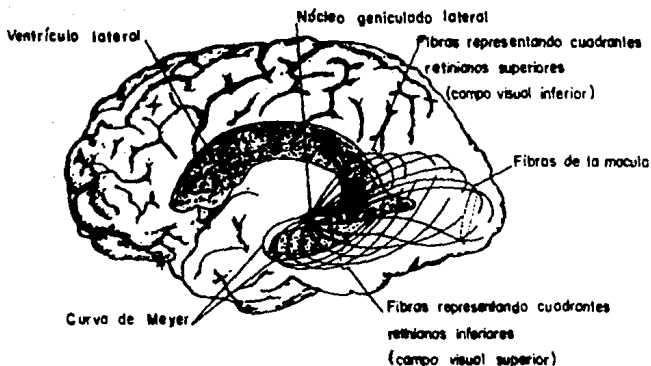


Fig. 4 Esquema que ilustra el curso de las fibras geniculocalcarinas, como se curvan sobre el ventrículo lateral y entonces se doblan posteriormente para terminar en el banco de la fisura calcarina sobre la superficie media del hemisferio, notar que las fibras que representan campos visuales inferiores terminan en el campo superior, fibras que representan campos visuales superiores terminan en el banco inferior, y fibras que representan áreas cercanas a la línea media (mácula) terminan más posteriormente. (Tomado de Nolte, 1981).

## **HIPOTESIS.**

Tomando en cuenta que la retina fetal no solo sobrevive sino que madura y establece conexiones fibrilares con el tejido nervioso del receptor, y que además estas proyecciones son específicas a núcleos retino-recipientes, suponemos que al implantar globo ocular inmaduro en corteza visual con un pequeño segmento de nervio óptico y al llevar este las fibras nerviosas de la retina, habrá formación y desarrollo de nuevas conexiones nerviosas a partir del nervio óptico hacia la corteza visual.

## **OBJETIVO.**

Estudiar con métodos histológicos el desarrollo de proyecciones nerviosas a partir del nervio óptico del globo ocular implantado hacia la corteza visual del cerebro hospedero y dependiendo de esto ver el grado de mantenimiento de la organización funcional del globo ocular implantado.

## METODOLOGIA.

Se efectuaron dos tipos de implantes: autoimplantes y aloimplantes.

### Autoimplantes.

Se emplearon siete ratas cepa Wistar de ocho días de edad, proporcionadas por el bioterio del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN), se anestesiaron con eter, y en condiciones de asepsia, a todas se les enucleó el ojo izquierdo incluyendo el párpado y un pequeño segmento de nervio óptico. A la cavidad formada por la enucleación del ojo se le colocó un poco de gelfoam, esto con la finalidad de detener la hemorragia provocada por la enucleación del ojo y cuando esto no era suficiente, la cavidad era cauterizada. Posteriormente se colocó el tejido en una caja de petri con solución salina en frío; inmediatamente se realizó craneotomía a nivel del lóbulo occipital derecho, se retiraron meninges y se colocó quirúrgicamente el ojo enucleado con el segmento de nervio óptico en contacto directo con corteza cerebral, después se suturó el ojo con seda 7-0, uniéndose el borde de los párpados del ojo enucleado con la piel del animal hospedero. Un mes después del implante los animales fueron sacrificados y perfundidos con formalina neutra amortiguada (fig.5).

### Aloimplantes.

Se emplearon ratas hembra cepa Wistar proporcionadas por el bioterio del INNN, las cuales se aparearon considerándose como día cero de gestación cuando se encontró esperma en vagina. A los 18-19 días de gestación se sacrificaron, obteniéndose los fetos, los cuales se transfirieron a una caja de petri con solución salina en frío y en estas condiciones a cada feto se le

enuclearon ambos ojos conservando un pequeño segmento de nervio óptico. Seguido a esto, se anestesiaron con éter once ratas Wistar de ocho días de edad, se les enucleó el ojo izquierdo, y después se procedió a realizar craneotomía a nivel del lóbulo occipital derecho, se retiraron meninges y se colocó el ojo fetal con el segmento de nervio óptico en contacto directo con corteza cerebral. En algunos animales se implantaron uno, dos y hasta tres ojos fetales, esto se hizo porque era probable que si se colocaba un solo ojo este degeneraría por la falta de aprovisionamiento sanguíneo y al poner más implantes la posibilidad de que alguno sobreviviera se aumentaba; además de que serviría para comparar lo que sucedería cuando sólo se implantaba uno solo. Finalmente se suturó con seda 7-0. De uno a dos meses después del implante, los animales fueron sacrificados y perfundidos con formalina neutra amortiguada. Posteriormente los cerebros fueron extraídos y se dejaron en el mismo fijador durante 15 días para lograr una mejor fijación.

Tanto en los autoimplantes como en los aloimplantes, los cerebros se incluyeron en parafina y se realizaron cortes sagitales seriados de 0.5 mm. Las secciones de cada animal fueron teñidas con los siguientes métodos: Hematoxilina-Eosina, Método de Nissl, Tricrómico de Masson y Método de Holmes (ver apéndice).

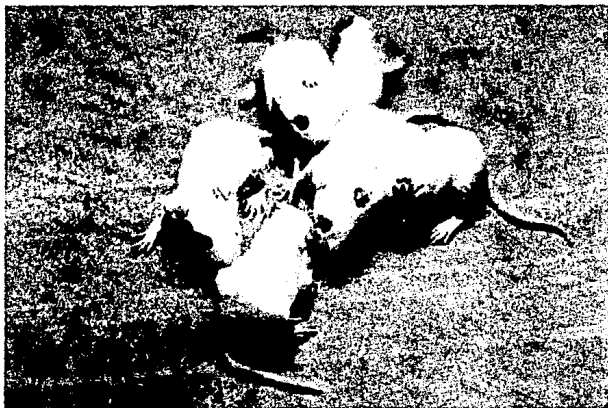


Fig. 5 Aspecto que muestra los animales autoimplantados.  
En cada uno se observa la cavidad debida a la  
enucleación y en la parte superior izquierda el  
ojo implantado.

## RESULTADOS.

De los once animales con aloimplante en corteza occipital derecha, seis se sacrificaron un mes después. En cuatro de estos, el tejido transplantado se encontró completamente destruido, encontrándose en la zona del implante, una gran cantidad de polimorfonucleares degenerados y productos de degradación de tejido o detritus celulares; en dos de ellos se observó en el sitio del implante una cavidad rodeada de linfocitos, macrófagos (fig.6) y polimorfonucleares degenerados constituyendo un granuloma parencéfalo, es decir, un granuloma que no formaba parte de la masa encefálica; en otros dos animales se observó además de lo anterior algunas partículas refringentes, probablemente pelos que se introdujeron junto con el ojo implantado lo que posiblemente explica el que también se observen células gigantes de tipo cuerpo extraño, que se caracterizan por ser muy voluminosas, contener de dos a varios núcleos y originarse de la fusión de macrófagos (Ham, 1986) (fig.7). Solo en dos animales se apreció el implante parcialmente incorporado al cerebro hospedero (fig.8), sin embargo a nivel microscópico se vieron totalmente necrosados (figs.9 y 10), encontrándose infiltrados por gran cantidad de linfocitos, macrófagos y polimorfonucleares degenerados, en uno de ellos había células gigantes de tipo cuerpo extraño, en tanto que el otro presento eosinófilos, en cuyo citoplasma se observan granulos de color rojo o anaranjado. En todos los implantes se apreció tejido conjuntivo cicatrizal consistente en tejido conectivo denso, constituido principalmente de fibras colágenas gruesas (fig.11).

De los cinco animales restantes con aloimplante y que fueron sacrificados dos meses después, en uno de ellos se observó una gran cavidad, cubierta exteriormente por fibras colágenas en cuyo interior no se observaron restos del implante; en tres más solo se encontraron macrófagos, linfocitos y tejido conjuntivo cicatrizal. En un animal se encontró el implante, presentando a su alrededor

proliferación vascular (fig.12), fibroblastos, macrófagos y polimorfonucleares degenerados (fig.13), identificándose el ojo implantado en proceso activo de degeneración, pues en la parte central del implante se apreció un área fibrosa irregular, sin orden, semejante a un gel de color más claro en relación al tejido que lo circunda, lo cual se parece al cuerpo vítreo de un ojo normal a la edad de 18 y 19 días de gestación (fig.14), pero en proceso activo de degeneración (fig.15).

De los siete animales con autoimplante en corteza occipital en seis de ellos había, en la región del implante, una cavidad cubierta por fibras de colágena, linfocitos y macrófagos. Solo en un animal persistió el implante aunque necrosado, rodeado por fibras de colágena, donde se observó una incipiente proliferación vascular (fig.16), acompañada de gran cantidad de polimorfonucleares degenerados y macrófagos (fig.17).

No hubo penetración de fibras al implante, sin embargo este se integró al tejido cerebral (fig.18), lo cual se comprobó al hacer una observación detallada y a mayor aumento de la región donde el implante se integra al tejido cerebral (fig.19). La región central del implante tenía apariencia semejante a la de un cuerpo vítreo pues esta es semejante a un gel (fig.20), aunque se observó infiltración linfocítica (fig.21).

Por lo que respecta a los animales que se les transplanta varios ojos, independientemente de que fueran aloimplantes o autoimplantes, no se encontró en ninguno de ellos restos de los mismos.

En ningún implante se observaron tejidos funcionales e histológicamente integrados como esclerótica, córnea, coroides, cristalino y retina. Por lo tanto no hubo formación ni penetración de fibras al implante.



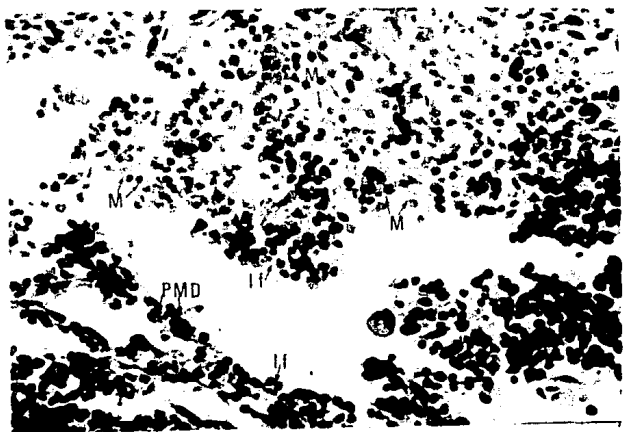


Fig. 6 Se muestra en la periferia del aloimplante una gran cantidad de macrófagos (M), linfocitos (lf) y polimorfonucleares degenerados (PMD). Aumento 40x. Técnica de Hematoxilina-Eosina.

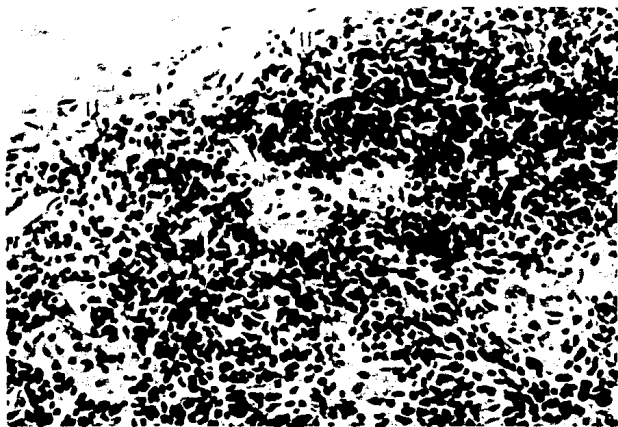


Fig. 7 Se muestran algunas células gigantes de tipo cuerpo extraño (flechas), formadas por la fusión de macrófagos, y que se disponen en forma de anillo. Obsérvese la gran cantidad de células linfocíticas a su alrededor (lf). Aumento 20x. Técnica de Hematoxilina-Eosina.



Fig. 8 Se muestra los implantes parcialmente embebidos en los cerebros hospederos (flechas).

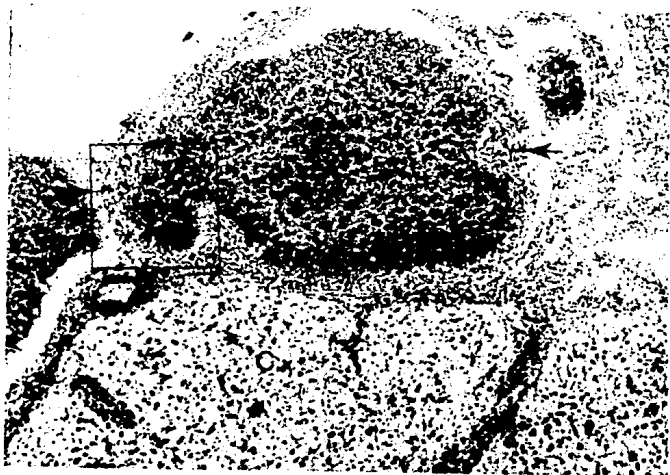


Fig. 9 Aspecto de un aloimplante totalmente necrosado (flechas). Obsérvese que el ojo implantado se encuentra rodeado de restos de otros implantes (R1), además se observa en contacto directo con el tejido cerebral (Cx) del animal hospedero. Aumento 10x. Técnica de Holmes.

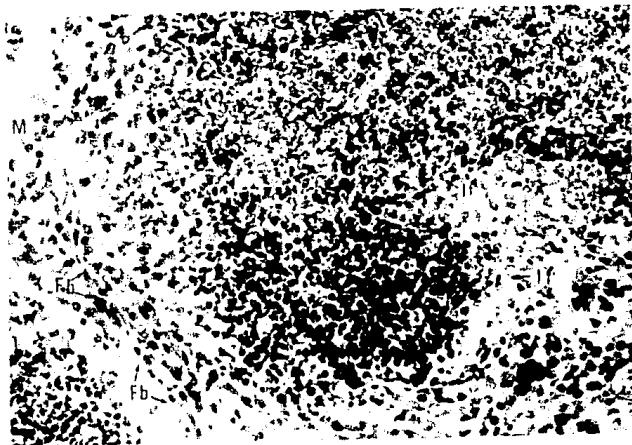


Fig. 10 Detalle de la figura anterior (cuadro), donde se observa la gran cantidad de infiltración linfocítica (lf), algunos fibroblastos (Fb) y macrófagos (M). Aumento 40x. Técnica de Hematoxilina-Eosina.

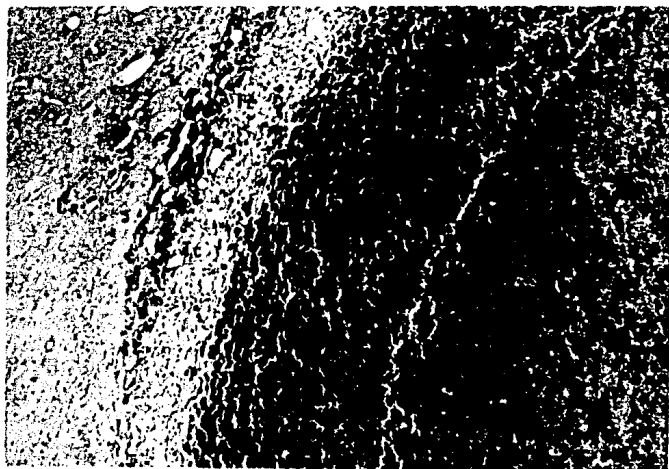


Fig. 11 Se muestra parte de un aloimplante (Al) embebido en el tejido cerebral (Cx), con evidente infiltración linfocítica (lf). Obsérvese que el implante esta rodeado de tejido conjuntivo cicatrizal (Tc). Aumento 10x. Técnica Tricrómico de Masson.

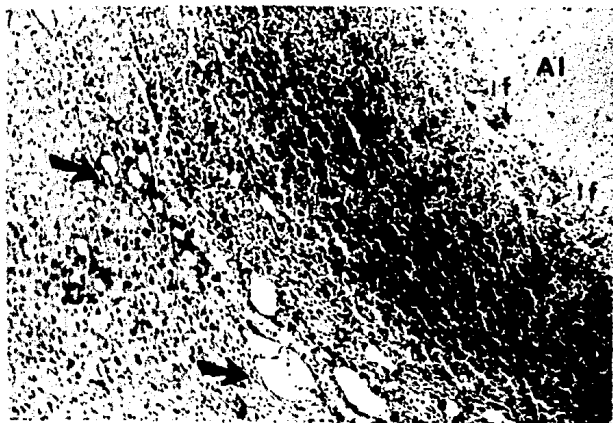


Fig. 12 Implante (Al) que muestra a su alrededor proliferación vascular (flechas), tejido cerebral (Cx) e infiltración linfocítica (lf). Aumento 10x. Técnica de Hematoxilina-Eosina.

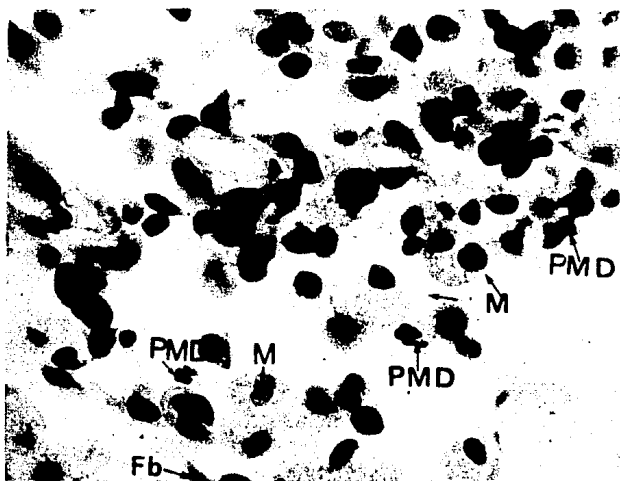


Fig. 13 Detalle a mayor aumento del aloimplante que presenta en su periferia macrófagos (M), polimorfonucleares degenerados (PMD) y fibroblastos (Fb). Aumento 100x. Técnica de Hematoxilina-Eosina.



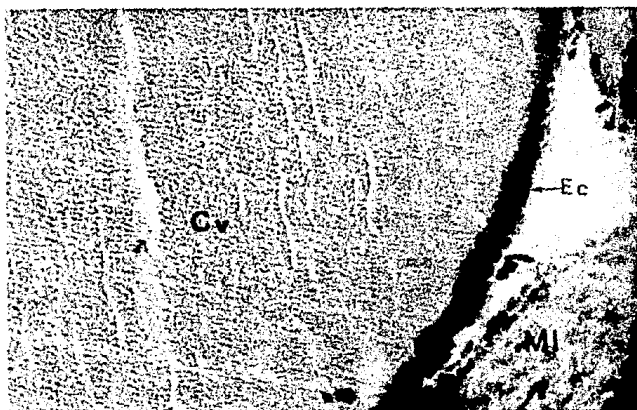
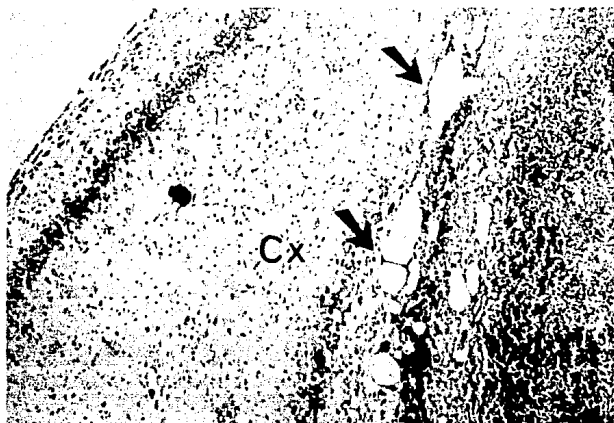


Fig. 14 Aspecto que presenta el cuerpo vítreo (Cv) de un ojo normal de rata a la edad de 18 y 19 días de gestación. Obsérvese el epitelio cúbico (Ec) y músculo liso con aspecto irregular (Mi). Aumento 40x. Técnica de Hematoxilina-Eosina.



Fig. 15 Obsérvese el interior del implante (flecha) un aspecto fibroso irregular, sin orden, semejante a un cuerpo vítreo, con evidente infiltración linfocítica (lf) y algunas fibras colágenas (Fc). En la parte superior izquierda se puede observar parte del plexo coroides (Pc). Aumento 10x. Técnica Tricrómico de Masson.



**Fig. 16** Autoimplante que muestra proliferación vascular (flechas), tejido cerebral (Cx), además de infiltración linfocítica (lf). Aumento 10x. Técnica de Hematoxilina-Eosina.



Fig. 17 Autoimplante que presenta proliferación vascular (flechas), polimorfonucleares degenerados (PMN), macrófagos (M) y células fibroblásticas (Fb). Aumento 20x. Técnica de Hematoxilina-Eosina.

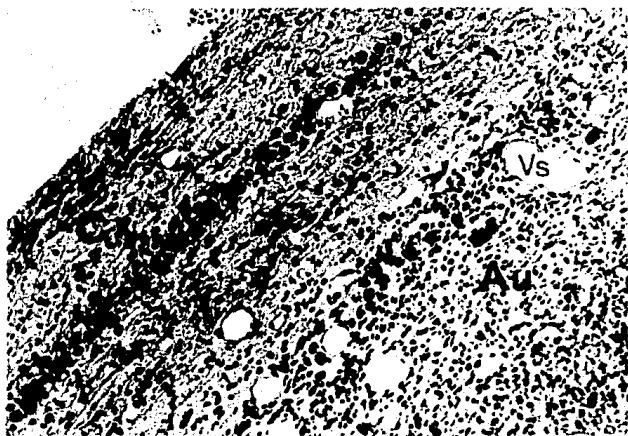


Fig. 18 Se observa el autoimplante (Au) rodeado de vasos sanguíneos (Vs) integrado al tejido cerebral (Cx) pero no hay penetración de fibras. Aumento 10x. Técnica de Holmes.

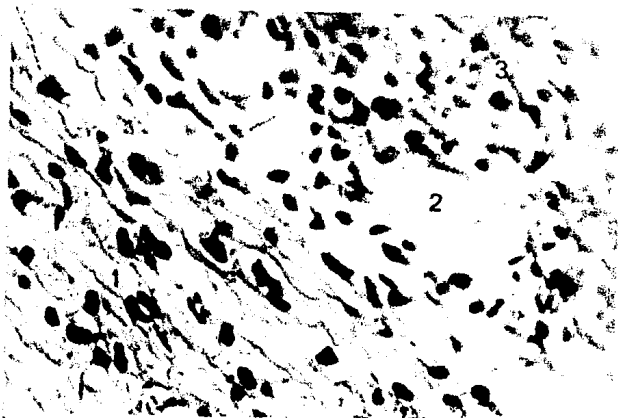


Fig. 19 Detalle de la fotografía anterior, donde podemos observar fibras (1), proliferación vascular (2), e infiltración linfocítica (3). Aumento 40x. Técnica de Holmes.

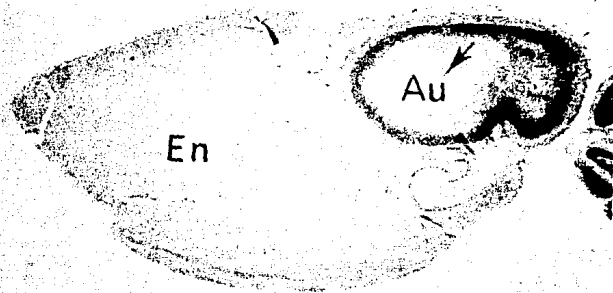


Fig. 20 Vista panorámica del encéfalo (En) de un animal autoimplantado. El autoimplante (Au) en su centro presenta una apariencia semejante al cuerpo vítreo (flecha). Aumento 2.5x. Técnica de Nissl.

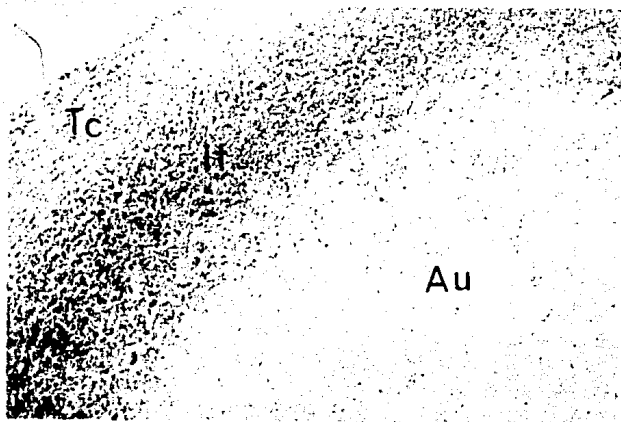


Fig. 21 Acercamiento de la figura anterior donde se observa el interior del implante (Au) con infiltración linfocítica (lf). Obsérvese alrededor del implante tejido conjuntivo (Tc). Aumento 10x. Técnica de Hematoxilina-Eosina.



## DISCUSION.

De los 18 animales implantados solo en cuatro de ellos se preservó el implante, de estos, uno fue de un animal autoimplantado sacrificado un mes después y los otros tres correspondieron a animales aloimplantados, dos de ellos sacrificados un mes después del implante y uno sacrificado dos meses después. De estos cuatro animales, sólo en el animal autoimplantado y uno aloimplantado se encontró en la región central una estructura semejante al cuerpo vítreo, aunque en proceso activo de degeneración. Estos resultados no coinciden con los reportados por Freed y Wyatt (Hankin, 1987) y Freed (Freed, 1980), donde se implantaron ojos fetales al cerebro y estos mantuvieron, hasta cierto punto, un grado de organización semejante a ojos intactos, y que además mostraron, por técnicas electrofisiológicas, que cuando se les estimulaba fotónicamente, estos respondían a la luz. Esta diferencia en resultados puede deberse a varios factores, algunos de ellos metodológicos, entre los cuales se encuentra la técnica quirúrgica, ya que a pesar de que en todos fue igual, bien pudo haber sido la reacción tisular del órgano transplantado, como la falta de aprovisionamiento sanguíneo (Rjorklund, 1984), ya que a pesar de que la retina al momento del implante es avascular (Del Cerro, 1987), se debe considerar que esta se transplantó con el globo ocular completo no disociado, como en los experimentos de Freed y Wyatt (Freed, 1980). Esto se hizo con la finalidad de preservar la anatomía del implante e intentar observar de manera más clara, la posible proyección de fibras nerviosas a la corteza visual del animal hospedero.

Es posible que la degeneración del ojo implantado, se haya debido a la ruptura de los axones de las células ganglionares en el momento de la enucleación de los animales donadores (Mc Loon, 1980 y 1983). Existe cierta polémica con respecto de cual es la edad apropiada que debe tener el donador para que el implante de retina sea exitoso, en relación a esto Mc Loon y Lund en 1983 reportaron que el transplante

de retina de fetos mayores de 16 días de gestación no es exitoso, sin embargo, Aresant en 1988 reportó que la retina de rata puede ser transplantada exitosamente durante las dos primeras semanas de vida postnatal, es por eso que en el presente trabajo los implantes se obtuvieron de fetos de 18 y 19 días de gestación ya que a esta edad los ojos mantienen una consistencia más firme, lo que hace más fácil su manejo y no se corre el riesgo de dañarlos durante la enucleación, además de que se encuentra dentro del rango de tiempo de sobrevivencia señalado por ambos autores; no obstante estas consideraciones, la gran mayoría de los implantes fracasaron, mostrando con ello que posiblemente la edad del donador debía ser menor para incrementar la posibilidad de éxito.

Otros factores que posiblemente influyeron, en el caso de los aloimplantes, es la inmunogénicidad del tejido donador, esto es, que el tejido implantado provocó una respuesta inmune específica que consistió en la elaboración de anticuerpos y/o al desarrollo de inmunidad mediada por células (Bellanti, 1988). Otro factor más es el introducir antígenos extraños en el momento del implante, pues en el caso de los aloimplantes, además del rechazo provocado por estos, también se encontraron algunas partículas refringentes lo que explica que se formaran células gigantes de tipo cuerpo extraño cuya finalidad al parecer es fagocitar masas grandes de material ajeno, incluyendo tejidos (Ham, 1986); además la presencia de eosinófilos se explica porque intervienen en los fenómenos que circunscriben y restringen las reacciones inflamatorias localizadas, como en este caso, la formación del granuloma. Otro factor que posiblemente también influyó fué el rompimiento de la barrera hemato-encéfalica que, como se sabe, es un sistema vascular que limita el transporte en el cerebro, y que se caracteriza porque los capilares tienen un endotelio continuo con conexiones estrechas y que, por consiguiente, impide en forma efectiva el paso de muchas sustancias, entre ellas las proteínas (Stratton, 1984). La localización del transplante es otra posible causa por la cual éste probablemente no fué viable, ya que se trató de un implante heterotópico, es decir, se colocó en un sitio donde, en condiciones normales no se encuentra. Las relativas

diferencias inmunogenéticas entre el hospedero y el donador posiblemente también influyeron en el fracaso de la gran mayoría de los implantes, es decir, diferencias en los factores que controlan la capacidad de respuesta inmunitaria del huésped ante elementos extraños, así como la transmisión de especificidades antigénicas de una generación a otra (Bellanti, 1988). Otra causa que posiblemente también influyó en la poca viabilidad de los implantes fue el tamaño de estos y la forma en que fueron introducidos, puesto que el introducir un implante en forma disociada es menos traumático que cuando se hace en forma de tejido sólido, además de que disociado, una vez introducido, es poco probable que incremente su volumen en relación a los tejidos sólidos (Lund, 1988; Matthews, 1982; Mc Loon, 1981).

Se considera que se deben intentar más trasplantes modificando adecuadamente las variables antes mencionadas lo que posiblemente permitirá una mayor viabilidad de los implantes, ya que esto es factible como lo demuestra la integración parcial del tejido implantado en cuatro animales.

## CONCLUSIONES.

-No se desarrollaron proyecciones nerviosas a partir del nervio óptico del globo ocular implantado hacia el cerebro del animal hospedero.

-De los 18 animales implantados, en cuatro de ellos se encontró el implante adherido al tejido cerebral, mientras que en los 14 restantes, el tejido implantado fué destruído en su totalidad.

-El tiempo de sacrificio de los animales implantados no fué determinante en la preservación del implante.

## APENDICE.

### Método de Hematoxilina-Eosina.

#### Solución alcohólica de yodo al 1 %.

Alcohol 96°.....	100 ml
Yodo.....	1 g

#### Tiosulfato de sodio al 5 %.

Tiosulfato de sodio.....	5 g
Agua destilada.....	100 ml

#### Hematoxilina de Harris.

Hematoxilina de Harris.....	5 g
Alcohol del 96°.....	50 ml
Sulfato de aluminio y potasio.....	100 g
Agua destilada.....	1000 ml
Oxido mercurico.....	2.5 g

#### Alcohol Acido.

Alcohol 70 %.....	250 ml
Acido Clorhídrico.....	2.5 ml

#### Agua Amoniacal.

Agua de la llave.....	250 ml
Hidróxido de Amonio.....	2.5 ml

## Eosina.

Eosina..... 2 g  
Aqua Destilada..... 160 ml  
Alcohol 96..... 640 ml  
Una gota de Acido Acético por cada  
100 ml.

## Procedimiento.

- Se usa un mordente que es una solución alcohólica de yodo al 1 % de 10-15 min.
- Lavar en agua de la llave.
- Solución de tiosulfato de sodio al 5 % durante 5 min.
- Lavar tres veces en agua de la llave.
- Pasar a agua destilada.
- Tenir con Hematoxilina de Harris de 10-15 min.
- Lavar en agua corriente y después en agua destilada por 3 min.
- Decolorar con alcohol ácido 15 seg.
- Lavar en agua destilada
- Virar en agua amoniacal.
- Lavar en agua corriente por 5 min.
- Enjuagar en agua destilada
- Teñir con Eosina de 15 seg a 2 min.
- Lavar en alcohol 70 %.
- Deshidratar en alcoholes graduales, aclarar en xilol y montar en resina.

## Método de Holmes.

Solución de Nitrato de Plata al 20 %.

Nitrato de Plata..... 20 g  
Agua Destilada..... 100 ml

Buffer de Acido Bórico.

Acido Bórico..... 12.4 g  
Agua Destilada..... 1000 ml

Buffer de Borax.

Borax..... 19 g  
Agua Destilada..... 1000 ml

Solución de Nitrato de Plata al 1 %.

Nitrato de Plata..... 1 g  
Agua Destilada..... 100 ml

Solución de Piridina al 10 %.

Piridina..... 10 ml  
Agua Destilada..... 90 ml

Solución Impregnante.

Buffer de Acido bórico..... 55 ml  
Buffer de Borax..... 45 ml  
Agua Destilada..... 394 ml  
Nitrato de plata al 1 %..... 5 ml

Solución Reductora.

Hidroquinona..... 1 g  
Sulfito de Sodio..... 10 g  
Agua Destilada..... 100 ml

### **Cloruro de Oro al 0.2 %.**

Cloruro de Oro 1 % acuoso... 2 ml  
Agua Destilada..... 100 ml

### **Solución de Acido Oxálico al 2 %.**

Acido Oxálico..... 2 g  
Agua Destilada..... 100 ml

### **Procedimiento.**

- Desparafinar e hidratar hasta agua destilada.
- Pasar a la solución de nitrato de plata al 20 % 2 hs.
- Lavar tres veces en agua destilada.
- Pasar a solución impregnante a 37°C en obscuridad, toda la noche.
- Escurrir el exceso de solución impregnante y pasar a solución reductora por 2 min.
- Lavar en agua corriente por 3 min., entonces lavar en agua destilada.
- Tonificar en cloruro de oro por 3 min.
- Lavar brevemente en agua destilada.
- Pasar a ácido oxálico de 3 a 5 min., hasta que los axones adquirieran un tono azul-negruczo.
- Lavar en agua destilada.
- Pasar a solución de tiosulfato de sodio por 5 min y lavar con agua corriente por 5 min.
- Deshidratar en alcohol 96, alcohol absoluto y aclarar en xilol.
- Montar en resina.

### **Método de Tricrómico de Masson.**



### Fijador de Bouin.

Solución acuosa saturada de ácido pícrico.....	75 ml
Formaldehído(37-40 %).....	25 ml
Acido Acético Glacial.....	5 ml

### Hematoxilina Férrica.

#### Solución A.

Hematoxilina.....	1 g
Alcohol 96.....	100 ml

#### Solución B

Cloruro férrico acuoso al 29 %.....	4 ml
Agua Destilada.....	95 ml
Acido Clorhídrico.....	1 ml

Mezclar por partes iguales la solución A y la solución B.

### Fushina Escarlata de Biebrich.

#### Escarlata de Biebrich

acuosa al 1 %.....	90 ml
Fushina ácida acuosa al 1 %.....	10 ml
Acido Acético Glacial.....	1 ml

### Acido Fosfomolibdico-Fosfotúngstico.

Acido Fosfomolibdico.....	5 g
Acido Fosfotúngstico.....	5 g

Agua Destilada..... 200 ml

Azul de Anilina.

Azul de Anilina..... 2.5 g

Acido Acético..... 2 ml

Agua Destilada..... 100 ml

Procedimiento.

-Se usa como mordente el fijador de Rouin por 1 hs a 56°C.

-Lavar en agua corriente hasta que el color amarillo desaparezca.

-Enjuagar en agua destilada.

-Pasar a Hematoxilina férrica 10 min.

-Lavar en agua corriente durante 10 min.

-Enjuagar en agua destilada.

-Pasar a Escarlata de Biebrich por 1 o 2 min.

-Enjuagar en agua destilada tres veces.

-Pasar a ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico por 30 min.

-Pasar a la solución de anilina por 15 a 20 min.

-Enjuagar en agua destilada tres veces.

-Pasar a ácido acético acuoso al 1 % 3 min.

-Deshidratar en alcohol 96°, alcohol absoluto, aclarar en xilol y montar resina.

Método de Nissl.

Solución de Violeta de Cresil.

Violeta de Cresil..... 0.1 g

Agua destilada..... 100 ml

Procedimiento.

- Desparafinar e hidratar los cortes hasta agua destilada.
- Cubrir las secciones con el violeta de cresilo filtrado, teñir por 20 a 30 minutos.
- Enjuagar en agua destilada.
- Dejar en alcohol de 96' hasta que todo el exceso de colorante sea removido.
- Pasas a alcohol absoluto y absoluto-xilol y dejar por unos pocos minutos.
- Si aun hay exceso de colorante, entonces lavar rápidamente en alcohol absoluto.
- Detener la reacción en xilol.
- Repetir las etapas de alcohol-xilol si es necesario.
- Enjuagar bien en xilol y montar en resina.

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.-Arament R., Seiler M. and Turner J.E. (1988). Donor Age Influences on the Success of Retinal Grafts to the Adult Retina. Invest. Ophthalm. Vis. Sci. 29: 498-503.
- 2.-Azmitia C. E. and Bjorklund A. (1987). Cell and Tissue Transplantation into the Adult Brain. Neurobiol. of Aging. 8: 77-82.
- 3.-Beck W. S. (1977) : Fisiología Molecular, Celular y Sistemática. Publicaciones Cultural, México. p. 503-527.
- 4.-Bellanti J. A. (1988) : Inmunología. Interamericana, México. p. 87.
- 5.-Bjorklund A. and Stenevi H. (1984). Intracerebral Neural Implants: Neuronal Replacement and Reconstruction of Damaged Circuitres. Ann. Rev. Neurosci. 7: 279-308.
- 6.-Bunt S. M., Lund R. D. and Land P. W. (1983). Prenatal Development of the Optic Projection in Albino and Hooded Rats. Dev. Brain Res. 6: 149-168.
- 7.-Constantine-Paton M. (1978). Central Projections of Anuran Optic Nerves Penetrating Hindbrain or Spinal Cord Regions of the Neural Tube. Brain Res. 158: 31-43.

8.-Constantine-Paton M. and Ceprinca R. R. (1976). Axonal Guidance of Developing Optic Nerves in Frog. I. Anatomy of the Projection from Transplanted Eye Primordia. J. Comp. Neurol. 170: 17-32.

9.-Del Cerro M., Gash M. D., Notter M. F. D., Rao G. N., Wiegand S. J., Jiang L. Q. and Del Cerro C. (1987). Transplanting Strips of Immature Retinal Tissue and Suspensions of Dissociated Retinal Cells into Normal and Extensively Damaged Eyes. Ann. N.Y. Acad. Sci. 495: 692-698.

10.-Del Cerro M., Gash D. M., Rao G. N., Notter M. F., Wiegand S. J., Sathi S. and Del Cerro C. (1987). Retinal Transplants into the Anterior Chamber of the Rat Eye. Neuroscience. 21: 707-723.

11.-Freed J. W. (1983). Functional Brain Tissue Transplantation: Reversal of Lesion-Induced Rotation by Intraventricular Substantia Nigra and Adrenal Medulla Grafts, with a Note on Intracranial Retinal Grafts. Biological Psychiatry. 9: 1205-1267.

12.-Freed W. J., De Medinaceli L. and Wyatt R. J. (1985). Promoting Functional Plasticity in the Damaged Nervous System. Science. 227: 1544-1552.

13.-Freed W. J. and Wyatt R. J. (1980). Transplantation of Eyes to the Adult Rat Brain: Histological Findings and Light-Evoked Potential Response. Life Sci. 27: 503-510.

14.-Ham A. W. (1986): Tratado de Histología. 8a ed., Interamericana, México. p. 1016-1043.

15.-Hankin M. H. and Lund R. D. (1987). Specific Target-Directed Axonal Outgrowth from Transplanted Embryonic Rodent Retinae into Neonatal Rat Superior Colliculus. Brain Res. 408: 344-348.

16.-Harvey A. R., Rush R. A. and Keating P. J. (1988). Cultured Fetal Tectal Tissue Grafted to the Midbrain of Newborn Rats; Morphology of Grafts and Innervation by Host Retinal and Cortical Axons. Brain Res. 462: 89-98.

17.-Junqueira L. C., Carneiro J. (1981) : Histología. 2a ed., Salvat, Barcelona. p. 480.

18.-Katz M. J. and Lasek R. J. (1978). Eyes Transplanted to Tadpole Tails send Axons Rostrally in two Spinal-Cord Tracts. Science. 199: 202-204.

19.-Lesson C. R., Lesson T. S. and Paparo A. A. (1987) : Histología. 5a ed., Interamericana, México. p. 543-577.

20.-Lund R. D. and Hauschka S. D. (1976). Transplanted Neural Tissue Develops Connections with Host Rat Brain. Science. 193: 582-584.

21.-Lund R. D., Hankin M. H., Perry V. H., Rao K. and Simons D. J. (1986). Retinal Transplants. In: Agardh E and Ehinger B. (eds). Retinal Signal Systems, Degenerations and Transplants. Elsevier Science Publishers P. V. Amsterdam. p. 243-255.

22.-Lund R. D., Rao K., Hankin M. H., Kunz H. W. and Bill T. J. III. (1987).

Transplantation of Retina and Visual Cortex to Rat Brains of Retina and Visual Cortex to Rat Brains of Different Ages. Maturation, Connection Patterns, and Immunological Consequences. Ann. N.Y. Acad. Sci. 499: 227-241.

23.-Lund R. D., Rao K., Kunz H. W. and Bill T. J. III. (1988). Instability of Neural Xenografts Placed in Neonatal Rat Brains. Transplantation. 46: 216-223.

24.-Matthews M. A., West I. G. and Riccio R. V. (1982). An Ultrastructural Analysis of the Development of Foetal Rat Retina Transplanted to the Occipital Cortex, a Site Lacking Appropriate Target Neurons for the Optic Fibers. Journal of Neurocytology. 11: 533-557.

25.-Mc loon I. K., Mc loon S. C. and Lund R. D. (1981). Cultured Embryonic Retinae Transplanted to Rat Brains Differentiation and Formation of Projections to the Host Superior Colliculus. Brain Res. 226: 15-31.

26.-Mc loon S. C. and Lund R. D. (1980). Specific Projections of Retina Transplanted to Rat Brain. Exp. Brain Res. 40: 273-282.

27.-Mc loon S. C. and Lund R. D. (1983). Development of Fetal Retina, Tectum and Cortex Transplanted to the Superior Colliculus of Adult Rats. J. Comp. Neurol. 217: 376-389.

- 28.-Moyer K. E. (1983) : Neuroanatomía. Interamericana, México. p. 156-157.
- 29.-Nolte J. (1981) : The Human Brain. An Introduction to its Functional Anatomy. The C.V. Mosby Company, USA. p 189-210.
- 30.-Rhodin G. J. (1974) : Histology. N.Y. Oxford University Press. London. p. 750-772.
- 31.-Stratton D. B. (1984) : Neurofisiología. Limusa, México. p. 289-308.
- 32.-Turner J. E., Blair J. R. and Chappell E. T. (1986). Peripheral Nerve Implantation into a Penetrating Lesion the Eye: Stimulation of the Damaged Retina. Brain Res. 376: 246-254.
- 33.-Turner J. E. and Blair J. R. (1986). Newborn Rat Retinal Cells Transplanted into a Retinal Lesion Site in Adult Host Eyes. Dev. Brain Res. 26: 91-104.
- 34.-Turner J. E., Blair J. R., Seiler M., Aramant R., Leadtke T. W., Chappell T. and Clarkson L. (1988). Retinal Transplants and Optic Nerve Bridges: Possible Strategies for Visual Recovery as a Result of Trauma or Disease. Int. Rev. Neurobiol. 29: 281-308.