

47  
Dej



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

## Recuperación Funcional en Ratas con Hemiplejía Experimental

T E S I S

Que para obtener el Título de

B I O L O G O

P r e s e n t a n

María del Carmen Escalante Membrillo

Ricardo Aarón Márquez Rangel

INVESTIGACION PSICOBIOLOGICA BASICA

Ciudad Universitaria

1992

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.

## CONTENIDO

I. RESUMEN .....	1
II. INTRODUCCION .....	3
III. ANTECEDENTES .....	5
IV. HEMIPLEJIA EXPERIMENTAL .....	8
V. EFECTOS DEL AMBIENTE EN LA RECUPERACION DE FUNCIONES PERDIDAS POR DAÑO CEREBRAL .....	10
VI. EFECTOS DE LOS TRANSPLANTES DE TEJIDO CEREBRAL EMBRIONARIO EN LA RECUPERACION DE FUNCIONES PERDIDAS POR DAÑO CEREBRAL .....	16
1. ASPECTOS INMUNOLOGICOS .....	24
VII. PLASTICIDAD CEREBRAL .....	26
1. EL CONCEPTO DE PLASTICIDAD CEREBRAL .....	27
2. MECANISMOS PLASTICOS INVOLUCRADOS EN LA RECUPERACION FUNCIONAL DESPUES DEL DAÑO CEREBRAL .....	28
A. BROTE AXONICO .....	29
B. RENOVACION DE SINAPSIS .....	31
3. RECUPERACION FUNCIONAL COMO CONSECUENCIA DE LA PLASTICIDAD CEREBRAL .....	36
VIII. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	39
IX. HIPOTESIS .....	40
X. OBJETIVOS .....	40
XI. METODOLOGIA .....	41
1. ANALISIS DE LOS DATOS .....	49
2. ANALISIS HISTOLOGICO .....	51
XI. RESULTADOS .....	52
1. ESTADISTICOS .....	52
2. HISTOLOGICOS .....	75

XII. DISCUSION Y CONCLUSIONES .....	80
XIII. APENDICE .....	90
1. EFECTOS DE LA LESION CEREBRAL EN EL SNC .....	90
2. ACONTECIMIENTOS CELULARES ASOCIADOS A LA LESION CEREBRAL .....	91
3. TECNICAS PARA CAUSAR LESION CEREBRAL .....	95
4. SISTEMA MOTOR VOLUNTARIO EN EL SNC DE MAMIFEROS .....	96
5. FUNCIONES MOTORAS DE LA CORTEZA CEREBRAL .....	100
6. TECNICAS HISTOLOGICAS .....	102
7. DISTRIBUCION FUNCIONAL EN EL TIEMPO DE LOS REGISTROS EN LAS PRUEBAS DE AGARRE, NADO Y FUERZA .....	105
XIV. BIBLIOGRAFIA .....	109

## LISTA DE ABREVIATURAS UTILIZADAS EN ESTE TRABAJO

AE	Ambiente Estándar
AHMR	Análisis de la Huella de la Marcha de la Rata
AP	Ambiente Pobre
A-P	Antero-Posterior
AR	Ambiente Rico
CI	Cápsula Interna
FCN	Factor de Crecimiento Neuronal
L	Lateral
LB	Línea Base
LF	Lesión Falsa
LPCyPA	Laboratorio de Plasticidad Cerebral y Psicofisiología Aplicada
LV	Lesión Verdadera
P	Profundidad
PC	Plasticidad Cerebral
PL	Post-lesión
PT	Post-transplante
RP	Recuperación Pasiva
S	Seguimiento
SN	Sistema Nervioso
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico
TF	Transplante Falso
TNE	Tejido Neural Embrionario
TV	Transplante Verdadero

## I. RESUMEN

En la actualidad, son varias las evidencias que se tienen en torno a la recuperación de funciones perdidas por daño cerebral en vertebrados en general y, en particular, en humanos algunas enfermedades neurodegenerativas del Sistema Nervioso; entre otras, la recuperación pasiva, la recuperación inducida por el ambiente y la recuperación inducida por medio de trasplantes de tejido cerebral embrionario. Aunque se conocen algunos mecanismos que operan en la recuperación funcional después del daño, otros aún se ignoran, básicamente debido al desconocimiento en los procesos subyacentes a la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas. Por tal motivo, el propósito del presente trabajo fue el de evaluar diferentes tratamientos de recuperación funcional, como son la influencia del ambiente estándar que consiste en mantener a los animales de manera individual en cajas estándar de biofero (26 x 36 x 16 cm), el uso de trasplantes de tejido neural embrionario en estado de suspensión, así como de la recuperación pasiva, para tratar de identificar algunos de los mecanismos que facilitan u obstaculizan la recuperación funcional de ratas con hemiplejía experimental.

Se emplearon 20 ratas macho de la cepa Wistar divididos en 4 grupos: 1) lesión falsa, 2) lesión verdadera, 3) trasplante falso y 4) trasplante verdadero. Todos los grupos se sometieron a seis semanas de registro de línea base, para lo cual se empleó una batería de pruebas diseñada *ex profeso*; los animales recibieron una lesión unilateral (lesión falsa ó verdadera) en la cápsula interna del hemisferio cerebral derecho; después de ocho semanas de registro post-lesión, los grupos de trasplante recibieron una segunda cirugía, el grupo 3 recibió 10 µl de solución Ringer en el sitio lesionado, mientras que el grupo 4 recibió 10 µl de tejido cerebral embrionario. Después de diez semanas de registro en las etapas de seguimiento y post-trasplante, todos los animales se sacrificaron mediante perfusión cardíaca, obteniéndose el cerebro para su análisis histológico, empleando las técnicas de Cresil-Violeta y Rucker-Koilhan para evidenciar sustancia de Nissl y cromatólisis celular, así como la técnica de Río-Ortega para observar neuroglia. Los registros obtenidos de las pruebas de agarre, nodo y fuerza se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza simple dentro de los grupos, además de un análisis de regresión polinomial para los registros resultantes en el análisis de la huella de la marcha de la rata.

Los resultados mostraron que el efecto de la lesión fue sensible de medición mediante el método del análisis polinomial en la prueba de AHMR y con el AVs para las pruebas de

agare y fuerza en las extremidades delanteras, no siendo sensible esos cambios en los registros efectuados en las pruebas de nado y fuerza de las extremidades traseras; el reporte de los registros gráficos de la distribución funcional en el tiempo de estas dos últimas pruebas, logró inferir que sí hubieron cambios después de la lesión. La presencia o ausencia de la recuperación funcional en los animales lesionados en cada uno de los cuatro grupos experimentales también pudo medirse con los análisis aplicados.

El análisis histológico determinó que en el grupo TV, el trasplante de células embrionarias no sobrevivió provocando, probablemente, el aumento de las secuelas inducidas por la lesión intracraneal; en el grupo LF se observaron procesos de reparación del tejido mostrando una cicatriz bien definida, mientras que en los grupos LV y TF no se observó una cicatriz propiamente dicha, por lo que los procesos de reparación aún continuaban.

## II. INTRODUCCION

La recuperación de funciones perdidas por daño cerebral ha sido uno de los objetivos primordiales tanto de la investigación básica como de la aplicada, ya que durante algún tiempo prevaleció la idea de que las neuronas no se regeneraban (Corral y Palacios, 1983), ocasionando en cierto sentido un estancamiento en el estudio de las posibilidades de inducir recuperación funcional en vista del panorama restringido al que el cerebro se enfrentaba.

Por diversas observaciones surge el concepto de plasticidad cerebral y con él la posibilidad de que mediante técnicas y tratamientos especiales o terapéuticos se dé la restauración de las funciones perdidas por el daño cerebral.

Actualmente, la confrontación de dos procedimientos: la recuperación activa y la Recuperación Pasiva (RP) en el tratamiento del daño cerebral, permite distinguir algunos de los mecanismos nerviosos subyacentes a la recuperación y la influencia ambiental sobre ésta (Palacios, 1987a).

La RP se manifiesta como efecto de la plasticidad cerebral la cual implica cambios conductuales debidos a modificaciones neurales (como pueden ser la regeneración y/o la arborización dendrítica) y funcionales con las que el organismo, sin utilizar procedimientos externos adicionales (tratamientos terapéuticos), vuelve a adquirir parcialmente por sí mismo una función perdida (Bach-y-Rita, 1980; Palacios, 1987a). Sin embargo, este tipo de recuperación es altamente restrictiva en términos de motricidad y, además, posee un componente bastante elevado de privación sensorial.

Ante tal evidencia surge el concepto de recuperación activa, que se refiere al uso de procedimientos diversos forzando la recuperación de una función que ha sido perdida (Bach-y-Rita, 1980), como son las variables ambientales que propician la readquisición de la función en términos conductuales, como por ejemplo los medios enriquecidos y los ambientes prostéticos entre otros (Rosenzweig, 1980).

En este sentido, en los diferentes trabajos de Rosenzweig (1972, 1978, 1980) dejan clara la relación entre el ambiente y la recuperación de funciones perdidas por daño cerebral en ratas; el ambiente enriquecido favorece y estimula la recuperación, el ambiente pobre obstruye o retarda a ésta; el medio estándar ha sido, en algunos trabajos, un control de los ambientes anteriores (Rosenzweig, 1972 y 1980), aunque, recientemente se ha usado como un modelo de RP (Palacios, 1987b). Para Rosenzweig y cols. (1972), el ambiente rico consistió en una jaula metálica de amplias dimensiones (3m x 3m) con diferentes objetos en

su interior tales como balancines, ruedas de actividad, juguetes para niños y similares que resultaran estimulantes para los animales, siendo cambiados cada día hasta obtener un total de 25 objetos; el ambiente pobre consistió en cajas metálicas de 10 x 25 x 10 cm oscurecidas con estimulación nula; el estándar consistió en cajas de bioterio con dimensiones de 26 x 36 x 16 cm para mantener a los animales en grupo o individualmente.

Es de esperar por lo tanto, que la recuperación de una función en forma activa, o inducida ambientalmente, tendrá resultados más satisfactorios que aquella acontecida en forma pasiva. Sin embargo, en el campo clínico no es usual encontrar este tipo de rehabilitación, lo cual debiera impulsar a la búsqueda y establecimiento de técnicas de inducción forzadas adecuadas. En el primer caso, a nivel del laboratorio y en el segundo, a nivel terapéutico (Palacios, 1987a).

La recuperación por medio de trasplantes de tejido cerebral embrionario en animales (Dunnell y cols., 1982; Björklund y Stenevi, 1984), se ha convertido recientemente en una técnica que permite el estudio de algunos de los procesos mediante los cuales el cerebro se recupera del daño, sin la necesidad de emplear los medios enriquecidos, constituyendo otra técnica de recuperación inducida. Esta técnica consiste en la extracción de tejido cerebral embrionario de ratas de entre 14 y 17 días de gestación. El tejido es disociado en soluciones especiales y posteriormente inyectado en cavidades previamente preparadas mediante control estereotáxico. Los resultados indican que los trasplantes sobreviven si el riego sanguíneo es adecuado, y algunos autores reportan que los animales experimentales recuperan funciones perdidas (Björklund y Stenevi, 1984; Drucker y cols., 1984; Lescudron y Stein, 1990; Aguilar y cols., 1991).

Siendo éstos algunos de los tratamientos o técnicas de mayor relevancia en la inducción de recuperación funcional después de daño cerebral, en el presente trabajo se tomó en cuenta a éstos, para tratar de identificar algunos de los factores y mecanismos que facilitan u obstruyen esta recuperación, considerando básicamente alteraciones motoras, como es el modelo experimental de hemiplejía.

Dentro de este marco, el presente trabajo considera, en la estructura de su presentación, una parte introductoria al tema y al objetivo del trabajo experimental; el efecto del ambiente y el uso de los trasplantes de tejido cerebral embrionario en la recuperación de funciones perdidas por daño cerebral así como el concepto de plasticidad cerebral y el de la recuperación pasiva son revisados en capítulos posteriores.

### III. ANTECEDENTES

En la realización del presente trabajo, fue necesario considerar primordialmente la línea de trabajos desarrollada en el Laboratorio de Plasticidad Cerebral y Psicofisiología Aplicada (LPCyPA) de la Facultad de Psicología de la UNAM (Palacios, 1981).

Inicialmente en esa línea de trabajos, se tomó en cuenta el problema del mapeo de la Cápsula Interna (CI) de la rata Wistar, con el objeto de determinar los puntos de control de algunas de las funciones motoras implicadas en el desplazamiento del animal. Específicamente se buscó identificar el control motor grueso de extensión y flexión de las extremidades posteriores y anteriores de la rata, a partir del cual, el objetivo principal lo consilluyó la búsqueda de un modelo experimental que permitiese el estudio de su evolución después de la lesión.

Así, estudios posteriores, permitieron determinar que las lesiones en la zona baja de la CI de la rata provocaban secuelas hemiparéticas, es decir, se observó una disminución importante en las funciones de extensión en las extremidades posteriores de la rata. No obstante, los diferentes grados de lesión que llegaron a abarcar hasta el 90% de las fibras de la zona baja de la CI, el tiempo promedio con el que se recuperaron los animales fue de tres meses y medio, tiempo en el cual no intervino factor experimental alguno, a éste tipo de recuperación se le denominó RP (Palacios, 1987b).

Otro punto importante que se trató, fue el de evaluar esas mismas secuelas relacionadas a cambios en el ambiente, reportándose que en condiciones ambientales restringidas (ambiente pobre) todos los animales de una muestra perecieron, por lo que se modificaron algunos procedimientos; al replicar el mismo, los animales tuvieron una recuperación post-operatoria de tres días, la cual evitó que éstos murieran, finalmente volvieron a las condiciones de restricción de movimiento, las cuales favorecieron la evolución de las secuelas de lesión, de tal manera que de hemiparesia se convirtieron a hemiplejía y que pasado un tiempo de 20 días, en las mismas condiciones, una parte de los animales mostraron adaptación con secuelas menos duraderas y definidas, mientras que otros animales tuvieron secuelas irreversibles y posteriormente murieron. De ésta manera, se concluyó que las secuelas tenían una clara dependencia del medio ambiente, motivo por el cual, la línea de investigación que se siguió en el LPCyPA se enfocó a la evaluación de los efectos de las variables ambientales, así como la medición del daño cerebral y la recuperación funcional de ésta.

El modelo de restricción del movimiento fue replicado por Cardona y Varela en 1985 (Tesis de Licenciatura), teniendo como objetivo principal el de evaluar la influencia que ejerce la restricción del movimiento sobre las secuelas de daño cerebral motor producido por la hemiparesia experimental (lesión electrofítica en la CI) en la rata Wistar, reportando un retardo en la recuperación funcional de la misma.

Para la medición de las secuelas del daño y de la recuperación, se desarrollaron tres líneas experimentales, de las cuales dos de ellas fueron abandonadas, dado que los resultados fueron poco confiables; éstas líneas fueron:

1. El empleo del Pantógrafo Analógico, para la medición continua del desplazamiento de los animales (Solano, 1984).
2. La Categorización Conductual.
3. El entintado de las extremidades, tanto anteriores como posteriores, como evaluador de la marcha continua de los animales.

Hasta hace poco se tomó en cuenta una variable no considerada en la línea inicial de investigación, los efectos de la deficiencia proteínica en la dieta sobre la recuperación funcional (Miranda, 1986). En dicho estudio se analizó si la deficiencia en el consumo de proteínas interfiere con la recuperación de funciones perdidas por daño cerebral motor, producido por la hemiparesia experimental (lesión electrofítica en la CI) en la rata Wistar; reportándose que, en efecto, si existe una relación, pero que ésta no impide que se lleve a cabo la recuperación, sino que, interfiere en la acción de algunos mecanismos que se ven involucrados en ella, manifestándose en un retardo de la misma.

En los trabajos de restricción al movimiento y deficiencia proteínica, se empleó como prueba paramétrica el Análisis de la Huella de la Marcha de la Rata (AHMR), reportando que el método es sensible y confiable para la evaluación y medición del daño cerebral (Miranda, 1985; Cardona y Varela, 1985). Estudios posteriores realizados con el mismo fin, permitieron detallar y realimar dicha prueba paramétrica (Palacios, 1987b).

Recientemente, en el mismo laboratorio, se hizo la réplica del modelo experimental de hemiplejía, en el cual se reunieron varios aspectos mencionados anteriormente, y que tienen que ver con la inducción de recuperación funcional en daño cerebral, introduciendo una variable nueva: transplantas de Tejido Neural Embrionario (TNE). En éste estudio se lesionaron ratas Wistar en la CI del hemisferio cerebral derecho, mediante succión de tejido (no de tipo electrofítica como en estudios anteriores). Después de un periodo post-lesión, fueron asignadas azarosamente a una de las siguientes condiciones: trasplante falso y

transplante verdadero. El primer grupo recibió 10 µl de solución Ringer, en tanto que el segundo recibió el trasplante de células neurales embrionarias de la corteza cerebral frontal en estado de disociación (10 µl de suspensión), provenientes de fetos de ratas entre 14 y 17 días de gestación; los resultados sugirieron que las ratas con trasplante verdadero mostraron una reabsorción del tejido injertado que probablemente provocó que los animales no se recuperaran, además de que el tiempo de registro fue muy corto. Nuevamente se utilizó el AHMR (Palacios y cols., 1989). Se consideraron éstos trabajos como antecedentes para la presente investigación, por el hecho de que todos utilizaron el modelo experimental de hemiplejía, y que de alguna u otra manera, la variable experimental utilizada en algunos de ellos es similar a algunas de las consideradas en la presente investigación, y cuyos resultados servirán como base o cotejo con los de ésta investigación.

Por otra parte, en el hombre, los trastornos vasculares cerebrales son causados por lesiones a los vasos del cerebro, como hemorragias, trombosis, embolias o espasmos. La afectación neurológica resultante depende del sitio específico de la oclusión vascular cerebral, de la extensión de la zona afectada, así como de la lateralización y del tiempo que dure la alteración. La lesión puede ser única, múltiple o difusa, con pérdida motora, de la sensibilidad, o ambas. Con frecuencia el daño neurológico es unilateral y se manifiesta por hemiplejía o hemiparesia. El médico encargado del paciente con un trastorno vascular cerebral definido, debe encaminarse hacia la rehabilitación y dirigir su atención hacia la recuperación o el mejoramiento de la función, y prevenir cualquier factor que aumente la incapacidad. Hasta ahora, no se ha demostrado que las fármacos y las intervenciones quirúrgicas sean de gran utilidad. Sin embargo, se ha podido demostrar cierto grado de reeducación de la función motora en casi todos los pacientes bajo terapia de rehabilitación. La recuperación de la función ha sido mejor y más rápida en pacientes bajo tratamiento que en pacientes a quienes se ha dejado en recuperación espontánea o RP. Además, es muy probable que una gran parte de la recuperación funcional se favorezca previniendo complicaciones secundarias, como contracción espástica, dolor, limitación articular y disminución del movimiento. Es muy probable que las vías neuropsicológicas latentes se puedan activar con técnicas terapéuticas especiales por medio de estimulación sensorial, reflejos básicos y esfuerzos repetidos, pero estas técnicas requieren documentación, verificación y estandarización para su uso general, ya que los conceptos neurofisiológicos ameritan mayor investigación y las técnicas de tratamiento más recientes deben desarrollarse, comprobarse y aclararse en algunos casos (Cailliet, 1982).

#### IV. HEMIPLEJIA EXPERIMENTAL

Los pequeños vasos sanguíneos del cerebro, tales como las ramas de la arteria lenticuloestriada, que alimentan a los tractos fibrosos que van a través de la CI desde la corteza motora del cerebro medio, pueden romperse si la presión sanguínea se eleva excesivamente. La hemorragia que se produce se conoce comúnmente con el nombre de *ictus*. Otro mecanismo de accidente cerebral consiste en el desarrollo de trombosis. En ambos casos, la interrupción de los tractos corticoespinales dará lugar a una debilitación o parálisis del lado opuesto del organismo (hemiplejía) que se acompaña de alteraciones en el tono muscular, consistentes en un aumento de la resistencia a la flexión del miembro inferior y a la extensión en el superior (Gimeno, 1962). En los humanos, la hemiplejía puede producirse por una hemorragia generalmente como consecuencia de una presión alta y de un estado degenerativo de los vasos sanguíneos provocando la ruptura de la arteria media cerebral la cual irriga la mayor parte del área premotora principal. La interrupción de las fibras reticuloespinales inhibitorias dejará en libertad la inhibición procedente de los reflejos espinales y aumentará la actividad  $\gamma$ -motora. Los reflejos del estirón se intensificarán hasta tal punto que los movimientos pasivos de las articulaciones se hacen difíciles. El estado en cuestión que se origina se conoce como espasticidad. Generalmente, la lesión de una neurona motora superior, tal como ésta, origina una parálisis espástica. Ahora bien, si las fibras facilitadoras se afectan en mayor grado que las inhibitorias, se produce una parálisis flácida (Green, 1969).

La supresión de los flujos de la corteza cerebral tendrán una mayor repercusión sobre la motilidad fina diferenciada de los músculos más distales que prácticamente quedará perdida para siempre, mientras que la secuela será parcial sobre la motilidad de la musculatura proximal de los miembros que tienen una representación discreta en la corteza cerebral, y que para no ser en sus funciones más que parcialmente de tipo superior, quedará afectada sólo en cierto punto, pudiendo ser recuperable, por lo menos en parte bajo la acción de la reeducación muscular, que "entrene" a las estructuras subcorticales o corticales no afectadas por la lesión a funcionar en el nuevo régimen de "independencia", que es el propio de otras especies inferiores (Gimeno, 1962).

La lesión de la neurona motora inferior (vía final común) siempre da lugar a una parálisis flácida, pues los músculos pierden entonces su inervación y quedan completamente relajados después de la sección del nervio motor (Green, 1969). Finalmente, una lesión de

#### RECUPERACION FUNCIONAL EN RATAS CON HEMIPLEJIA EXPERIMENTAL

la corteza motora o de sus proyecciones en la CI tienen muchas más posibilidades de alterar el equilibrio entre los sistemas facilitador e inhibidor del tono muscular en favor del primero que del segundo (Gimeno, 1962).

Por tal motivo, y en base a la información anterior, la réplica de la hemiplejía en el laboratorio experimental ha consistido básicamente en la lesión de una estructura de control motor piramidal: la CI de la rata Wistar, la cual constituye el sitio de unión de las fibras nerviosas provenientes de la corteza cerebral motora y que van hacia las estructuras de relevo del control de las extremidades.

El procedimiento inicial de la búsqueda del modelo experimental de hemiplejía consiste en la identificación (rastreo) de los puntos de la CI comprometidos con respuestas de contracción muscular, de manera que ante la lesión, tales puntos o sitios de control motor grueso, sean incapaces de provocar la respuesta observada. Los puntos de la CI para el control de las extremidades posteriores están determinados en la parte baja (en las coordenadas estereotóxicas de: A-P= -1; L= 3.0 y P= -7.2), no siendo el caso para las extremidades anteriores que aún no están bien localizados. El rastreo se llevó a cabo utilizando electrodos de estimulación e induciendo por medio de éstos corriente eléctrica con pulsos discretos de 35 a 50  $\mu$ V. Las respuestas de contracción más apropiadas fueron elegidas y los puntos de la CI ante cuya estimulación fueron producidos, se lesionan provocando rigidez o flacidez (Palacios, 1987b).

## V. EFECTOS DEL AMBIENTE EN LA RECUPERACION DE FUNCIONES PERDIDAS POR DAÑO CEREBRAL

Se han reportado ejemplos y estudios de que la experiencia y el uso de ambientes enriquecidos producen cambios considerables en el Sistema Nervioso Central (SNC) desde hace algunos años (Rosenzweig en 1972, 1978 y 1980; Uylings y cols., 1978a); en la actualidad, la recuperación del daño cerebral inducida por el ambiente, es un proceso que permite visualizar la restauración de funciones después de lesiones en el SNC (Kaplan, 1988).

Probablemente, el primer científico en cuantificar cambios en el cerebro como resultado de la experiencia y del entrenamiento fue Michele Gaetano Malacame en 1780. El empleó en su estudio dos perros, dos loros, dos carpas doradas y dos mirlos, cada par de ellos de la misma camada o nidada. Entrenó un miembro de cada par durante un largo período, y el otro miembro no fue entrenado. Posteriormente sacrificó a los animales y examinó los cerebros, concluyendo que hubo más pliegues en el cerebelo de los animales entrenados que en aquellos que no lo estuvieron. En el siglo XIX, hubo un considerable interés en relacionar la talla de la cabeza humana con la habilidad intelectual y el entrenamiento. En 1870, Paul Broca, médico y antropólogo francés, comparó la circunferencia de la cabeza de estudiantes de medicina y enfermeros, determinando que los estudiantes tuvieron más grande la circunferencia de la cabeza. En vista de que los dos grupos de hombres jóvenes fueron iguales en habilidad, él concluyó que las diferencias en la circunferencia deberían deberse a las diferencias en el entrenamiento o la experiencia. Al comienzo del siglo XX, los investigadores no pudieron cuantificar que la experiencia provocaba cambios en el grosor anatómico del cerebro, debido a la falta de técnicas adecuadas que permitieran cuantificar tales cambios, por lo que este tipo de investigación fue abandonada durante algún tiempo. Con el desarrollo de técnicas e instrumental bioquímico en los años 50's, algunos investigadores pudieron detectar y cuantificar cambios en las sinapsis que transmiten impulsos de una célula nerviosa a otra, así como cambios en los ácidos nucleicos (ARN y ADN) de las células nerviosas (Rosenzweig y cols., 1972).

Así, en 1964, Rosenzweig determinó que ratas que estuvieron colocadas de cuatro a diez semanas en un Ambiente Pobre (AP) o Rico (AR), presentaron diferencias considerables entre sí. Aquellos animales colocados en el AR presentaron un aumento considerable en el peso de la corteza cerebral y gran actividad de la acetilcolinesterasa, en contraposición a la actividad de la colinesterasa; asimismo, se pudo identificar que hubo más células gliales en comparación con aquellos animales colocados en AP, y que aunque la experiencia no

cambia el número de células por unidad de tejido, el AR provocó que los cuerpos celulares y núcleos fueran más grandes, al parecer, como resultado de una actividad metabólica más elevada.

En 1972, Rosenzweig reportó que de 16 replicaciones efectuadas entre 1960 y 1969, empleando ratas de la misma cepa y expuestas a condiciones experimentales de AR y AP de 25 a 105 días, 13 de ellas mostraron diferencias significativas en el peso de la corteza occipital, siendo mayor en los animales que permanecieron en el AR y en los cuales su actividad de acetilcolinesterasa mostró un incremento, en tanto que la colinesterasa disminuyó, asimismo observó un incremento de células gliales y espinas dendríticas de la corteza cerebral, y tanto los cuerpos celulares como los núcleos fueron significativamente más grandes; todas estas observaciones las hizo en los animales colocados en AR en comparación con aquellos colocados en AP.

En estos estudios Rosenzweig consideró tres tipos de ambiente: rico, pobre y estándar. El AR o Enriquecido, consistió en una caja grande metálica con dimensiones de 3m x 3m, en la que varias ratas pudieron vivir y permanecer juntas, la cual se encontraba equipada con una variedad de objetos que resultaron estimulantes a los animales, tales como balancines, ruedas de actividad, juguetes para niños y similares hasta obtener un total de 25. El AP o Empobrecido, consistió de cajas metálicas pequeñas de 10 x 25 x 10 cm, oscurecidas y carentes de estimulación, en las que los animales vivieron de manera individual. En el Ambiente Estándar (AE) colocó una sola rata en una caja de bioterio (aproximadamente de 26 x 36 x 16 cm) con comida y agua *ad libitum*.

Siguiendo con esta línea de investigación, Volkmar y Greenough (1972) cuantificaron el porcentaje de material dendrítico en las neuronas piramidales de la corteza visual de animales colocados en AR, y en aquellos colocados en AP; en los animales colocados en condiciones estándar de laboratorio, el porcentaje de material dendrítico que se observó fue menor que en el grupo colocado en AR, pero mayor que en el grupo colocado en AP. De la misma manera las ratas que se mantuvieron en ambientes complejos (enriquecidos) mostraron un incremento en la capa cortical de glia y en la sinapsis, un aumento en el tamaño de los cuerpos y núcleos neuronales, así como un incremento en el número de espinas dendríticas en la corteza visual, cuando se colocaron en condiciones de AR después de haber permanecido en condiciones de aislamiento y oscuridad.

En 1984, Rosenzweig determinó que la capacidad de los cambios neurales plásticos no solamente se dieron en las primeras etapas de la vida de los individuos, sino a través de

ésta. Inicialmente realizó sus estudios en animales jóvenes (aproximadamente 25 días de edad en la rata), debido a que consideraba que el cerebro era más plástico en las ratas jóvenes que en las viejas. Posteriormente, tomó en cuenta animales de distintas edades y los colocó en diferentes ambientes para determinar las diferencias típicas en el cerebro. Las diferencias en el peso cerebral, fueron notables cuando ratas de 289 días de edad que se habían mantenido en condiciones estándar de laboratorio fueron colocadas en AR o AE durante 15 días o más, que se desarrolló más rápidamente en las ratas jóvenes que en las más viejas.

Resultados similares fueron reportados por Ferchmin y Eterovic (1980), quienes determinaron que cuatro días consecutivos en períodos de una hora de exposición a AR fueron suficientes para incrementar significativamente el peso de la corteza occipital en ratas jóvenes. Posteriormente establecieron que períodos de 10 minutos, durante cuatro días consecutivos de exposición a AR causaron un incremento considerable tanto en el peso como en el contenido de ARN en la corteza de ratas jóvenes, pero que estos períodos fueron poco efectivos en ratas de 90 días de edad.

Uytings y cols. (1978a) colocaron ratas de 112 días de edad en condiciones de AR y AE durante 30 días; el análisis de los animales mantenidos en condición AR mostró un incremento significativo en los brazos de los segmentos terminales de las porciones basales de los árboles dendríticos de las capas II y III en neuronas piramidales de la corteza visual.

Resultados similares a los anteriores fueron reportados por Juraska y cols. (1980) al colocar ratas de 145 días de edad en condiciones de AR y AE durante 84 días. Ellos observaron que tanto los brazos opicales oblicuos como las dendritas basales terminales de la capa III de neuronas piramidales de la corteza occipital fueron significativamente más largos en los animales expuestos a AR, así como un incremento significativo en el número de dendritas de primer orden de la capa IV.

Floeter y Greenough (1979; citados por Lerner, 1984) concluyeron que al colocar monos jóvenes en ambientes aislado, restrictivo y social, que el cerebro en el adulto experimenta cambios debidos a la influencia del ambiente enriquecido y/o especial.

En 1979, Glick y Bondareff (citados por Lerner, 1984), al comparar ratas de tres meses de edad con ratas de 24 meses establecieron que en los animales más viejos hubo pocas sinapsis en el giro dentado granular, al parecer la capacidad de las neuronas de regenerar conexiones perdidas declinan con el tiempo, ocasionando la poca cantidad de sinapsis presentes en las ratas más viejas.

Connor y cols. (1980; 1981a) examinaron las capas II y III de neuronas piramidales de ratas viejas después de 30 días de haber permanecido en ambientes complejos o sociales, haciendo una analogía con los estudios anteriores, el ambiente complejo corresponde al AR. Los resultados mostraron que en un grupo de ratas de 444 días de edad no hubo efectos significativos; en ratas de 600 y 630 días de edad las diferencias significativas aparecieron solamente en la longitud de terminaciones dendríticas de sexto orden, la cual ocurrió en una frecuencia promedio de menos de 0.5 por neurona, y en ratas de 400 días de edad, las neuronas tuvieron un 30% de pérdida de material dendrítico que aquellas de 90 a 600 días de edad (Connor y cols., 1981b).

Los resultados de Connor y cols. motivaron el siguiente estudio para determinar los efectos del AR en ratas maduras. Así, Green y cols. (1983) colocaron ratas de 450 días de edad en AR y ambiente aislado (que corresponde al ambiente pobre de Rosenzweig) durante 45 días, determinando que las neuronas piramidales de la capa III y las neuronas estrelladas de la capa IV de la corteza occipital de ratas que se mantuvieron en AR tuvieron significativamente más ramificaciones dendríticas en el orden de 2 a 5, así como un incremento significativo en las terminaciones dendríticas.

La mayoría de estos estudios han demostrado que el ambiente induce modificaciones estructurales y funcionales en la corteza cerebral de ratas a las que se les ha aplicado estimulación en diferentes etapas de su desarrollo: posnatal, madurez y vejez. Sin embargo, en pocos estudios se ha observado el efecto del ambiente en el período prenatal.

Venable y cols. (1989) determinaron que la estimulación durante el período de cría o período prenatal produjo un incremento considerable tanto en el número y longitud de los segmentos, en todos los ordenes de ramificaciones dendríticas, excepto en dos casos, cuando éstas, están más distales. Ellos colocaron pares de ratas recién nacidas en dos grandes grupos, una de las ratas fue expuesta del día 10 al 24 después de nacida y sin la madre a cuatro sesiones multisensoriales enriquecidas al día, en tanto que la otra rata se mantuvo en condiciones estándar de laboratorio. Al día 25 de nacidas, los animales fueron sacrificados. Los resultados indicaron que las ratas que se mantuvieron en condiciones de AR fueron significativamente un promedio más grande (35% más) en el número de segmentos dendríticos en orden de 1 a 5, que aquellas neuronas de animales colocados en condición estándar.

Murphy, Maclean y Hamilton (1981) observaron que al deprivar de la neocorteza a Hamsters recién nacidos, estos se desarrollaron normalmente desplegando sus conductas

típicas usuales (juegos y conductas maternas), al igual que cuando las circunvoluciones límbicas de la línea media fueron destruidos.

Continuando con los estudios de Rosenzweig, en 1984 hizo una revisión general de algunos de sus trabajos en donde se usó el AR en la recuperación de funciones perdidas por daño cerebral, junto con Will y Bennett replicaron un estudio realizado por Schwartz en 1964; lesionaron ratas neonatas en la corteza cerebral y después las colocaron en AR y AE respectivamente; para la cuantificación de los efectos las sometieron a la prueba de laberinto, los resultados indicaron que las ratas lesionadas mantenidas en condición AR realizaron mejor la prueba que aquellas colocadas en AE, y que solo se pudieron igualar a éstas, cuando los animales estuvieron intactos, es decir, sin lesión; estos resultados no sólo los observaron en ratas neonatas lesionadas (Will, Rosenzweig y Bennett, 1976; citados por Rosenzweig, 1984), sino después de lesiones provocadas en ratas postnatales (Will, Rosenzweig, Bennett, Hebert y Morimoto, 1977; citados por Rosenzweig, 1984), o adultas (Will y Rosenzweig, 1976; citados por Rosenzweig, 1984), de ambos sexos y de varias cepas. Además de que no se requirió de un largo período de exposición al ambiente, pues dos horas por día alrededor de 30 días fueron suficientes para producir mejoramiento en la conducta de los animales lesionados. Sin embargo, estos experimentos también mostraron que una lesión confinada en la corteza occipital provoca la pérdida de tejido y ADN en otras regiones de la corteza, pero que esto no fue obstáculo para que los animales lesionados mantenidos en AR presentaran recuperación funcional.

Estudios similares a los de Rosenzweig y cols., sugieren que el mantener a los animales en un AR puede provocar efectos protectores al daño cerebral y que un período post-operatorio en AR facilita la recuperación de lesiones cerebrales, después de cirugías realizadas en ratas postnatales y adultas (Dunnell y cols., 1986). Estos estudios sugieren algunos cambios en el sistema nervioso que ocurren no solamente después de las lesiones, sino también después de la recuperación, como resultado de la plasticidad cerebral (Kaplan, 1988).

En 1976, Will y cols. (citado por Rosenzweig, 1984) estudiaron el tiempo de exposición al AR para obtener efectos positivos en la recuperación de lesiones cerebrales, concluyendo que dos horas de exposición al ambiente, fueron suficientes para lograr el efecto deseado. Estas observaciones se hicieron trabajando con lesiones occipitales, hipocámpicas y por inducción hipofisaria en ratas, por lo que concluyeron también que el AR estimula la recuperación en varias clases de daños.

#### RECUPERACION FUNCIONAL EN RATAS CON HEMIPLEJIA EXPERIMENTAL

Uno de los problemas que se presenta en este tipo de estudios es la medición o cuantificación de los efectos de la experiencia en el cerebro, en relación al ambiente empleado, por lo cual es necesario contar con una línea base apropiada. Inicialmente se pensó en tomar a la condición estándar de laboratorio como línea base, ya que se observó que el peso de la corteza de ratas provenientes de AR era mayor que el peso observado en ratas de AE, y que éste era mayor que el observado en ratas de AP (Rosenzweig y cols., 1972).

Ante tal disyuntiva, Rosenzweig y cols. (1972) llevaron a cabo el siguiente estudio, tomando como línea base al ambiente natural en el que se desarrollan los roedores, capturaron ratas silvestres (*Peromyscus sp*) del área de San Francisco, California, y después fueron llevadas al laboratorio en donde algunas de ellas fueron colocadas en un ambiente seminatural y otras se colocaron en ambiente enriquecido. En cada uno de los ocho experimentos efectuados, las ratas que se colocaron durante un mes en el ambiente seminatural mostraron mayor desarrollo cerebral, en comparación a las ratas que fueron colocadas en condiciones de ambiente enriquecido. Esto indica por lo tanto que, el ambiente rico resulta empobrecido en comparación con un ambiente natural, que es subjetivo el hacer este tipo de comparaciones sin contar con una línea base o control adecuado para realizar este tipo de estudios comparativos.

**VI. EFECTOS DE LOS TRANSPLANTES DE TEJIDO CEREBRAL  
EMBRIONARIO EN LA RECUPERACION DE FUNCIONES  
PERDIDAS POR DAÑO CEREBRAL**

Por varios años los neurólogos han podido transplantar con éxito tejido neural de peces, anfibios y aves dentro de su especie (Marx, 1982). Recientemente, los injertos neurales en mamíferos han llegado a ser una técnica interesante en el desarrollo de procedimientos de rehabilitación del daño cerebral y para el estudio de los mecanismos neurales involucrados en la recuperación de funciones después de la lesión (Dunnett y Björklund, 1987a).

El primer intento de trasplante nervioso se remonta a fines del siglo XIX, realizado por W.G. Thompson, quien en 1890 intercambió piezas de tejido neocortical entre gatos y perros adultos; el análisis preliminar le permitió sugerir que es posible la supervivencia del tejido transplantado. En 1907, Del Conte realizó el primer intento de trasplante de tejido embrionario al cerebro, sin embargo, los trasplantes los realizó con tejido no nervioso por lo que no hubo crecimiento y los implantes degeneraron. Ramson en 1909, transplantó ganglios de ratas neonatas y adultas a la corteza de hospederos jóvenes, observándose parcialmente la supervivencia de neuronas sensoriales; posteriormente en 1914, el mismo Ramson y por su parte Allobelli, transplantaron tejido nervioso a la región telencefálica de mamíferos adultos, observando que los trasplantes sobrevivieron por cortos períodos de tiempo. Fue en 1917, cuando se logró realizar el primer trasplante exitoso de tejido del SNC realizado por E.H. Dunn, quien tomó tejido cortical de ratas de nueve a diez días de nacidas y los transplantó a cavidades hechas previamente en la corteza de neonatas de la misma camada; este trabajo demostró que el tejido del SNC fue capaz de desarrollarse aun cuando se encontró en un medio ajeno. Faldino (1924) y May (1930), demostraron que fue posible el trasplante de TNE, observando que sobrevivió y emitió prolongaciones axonales (citas en Fernández, 1987).

LeGros Clark (1940; citado por Aguilar y cols., 1991), reportó que los trasplantes intraventriculares de tejido pituitario fetal, además de sobrevivir por períodos largos de tiempo, desarrollaron neuronas totalmente diferenciadas y con ramificaciones. Holaz y cols. en 1962, dieron la primera evidencia de que existe alguna interacción entre el trasplante y el tejido hospedero ya que el tejido fue capaz de producir secreción hormonal. No obstante, los resultados favorables obtenidos en algunos trabajos, las técnicas de trasplante en general seguían siendo poco confiables, en particular la supervivencia de los injertos en

el cerebro de los animales hospederos seguía siendo muy baja.

Las razones de estos fracasos no se debían a problemas de técnicas quirúrgicas o anatómicas para la localización del injerto en el cerebro receptor, mas bien eran las condiciones bajo las que se usaban determinadas técnicas (Dunnett y Björklund, 1987a).

En 1970 las principales condiciones necesarias para la viabilidad del injerto en el cerebro fueron identificadas (Dunnett y Björklund, 1987a; Aguilar y cols., 1991):

1. El tejido nervioso a injertar debe ser de origen embrionario (condición sospechada ya en 1910 por E. Hopkin Dunn en Chicago). A diferencia de otros tejidos del organismo de los mamíferos, que sobreviven al trasplante de un punto a otro del cuerpo durante toda la vida (válido también para ciertos tejidos nerviosos periféricos), el tejido nervioso totalmente desarrollado no sobrevive después de ser trasplantado en un cerebro adulto. Los altos índices de viabilidad del TNE trasplantado se observan cuando el tejido es tomado en un período de su desarrollo embrionario correspondiente al final de los ciclos de división celular (entre los 14 y 17 días de gestación, para el caso de los roedores utilizados en este tipo de experimentos). Las razones de ello no están aún todavía claras, es posible que sea debido a que las neuronas muy "jóvenes" (neuritas) están aún relativamente indiferenciadas. Igualmente, las neuritas deben de ser injertadas antes de que broten sus axones y dendritas para evitar su daño cuando se hacen las suspensiones celulares para realizar el trasplante; además, las células embrionarias tienen la capacidad de sobrevivir en períodos relativamente más largos de anoxia que el tejido cerebral adulto.
2. Asegurar al tejido injertado un entorno nutritivo apropiado en el cerebro receptor. En la práctica, el tejido embrionario debe de ser colocado en un sitio tal que provea a las células una irrigación sanguínea importante y de acceso fácil a la circulación del líquido cefaloraquídeo, sólo algunos lugares del cerebro reúnen naturalmente estas características: el borde de los ventrículos laterales, los ventrículos tercero y cuarto, así como la hendidura coroides cercana al hipocámpo. De igual manera, pero de forma artificial, se puede crear el entorno nutritivo si la cavidad en donde se van a colocar las células embrionarias se realiza varias semanas antes ya que, como respuesta a una lesión cerebral, el cerebro es capaz de formar una cubierta meníngea altamente vascularizada que proporcionará el aporte nutritivo y los FCN necesarios para la sobrevivencia y crecimiento del trasplante.

3. Que el área transplantada sea homóloga a la que fue destruida en el cerebro receptor (Björklund y Stenevi, 1977). Tras diversas tentativas, investigadores como Ulf Stenevi (1980), William Freed, Jed Wyatt y su equipo (1980), el grupo de Michel Le Moal (1985), Nicole Le Douarin (1986), entre otros, admiten que para obtener mejores resultados en la viabilidad y funcionalidad del trasplante, el tejido embrionario debe ser tomado de la región que contiene las neuritas que formaron, en el animal adulto, parte de la estructura cerebral lesionada en los animales experimentales.
4. Inyectar en el lugar deseado suspensiones de células embrionarias y no tejido sólido. Este procedimiento tiene diversas ventajas: a) Las células pueden ser inyectadas en cualquier lugar del cerebro, incluso en lugares inaccesibles a la vía quirúrgica. b) La integración celular al tejido hospedero es muy rápida facilitando la conexión con la circulación sanguínea de tal manera que se puede prescindir de preparar artificialmente el lugar en donde se colocará el injerto. c) El daño al cerebro hospedero se presenta en menor grado a diferencia de la vía quirúrgica.

En 1971, Das y Allman reportaron la supervivencia de neuroblastos transplantados al cerebelo de ratas en desarrollo, identificando algunos de los factores que determinan el crecimiento e integración de los trasplantes con el hospedero. Lund y Hauschka en 1976 establecieron la capacidad de conexiones arborizadas entre el trasplante y el tejido anfitrión con base en sus observaciones sobre trasplantes de TNE al tejido nervioso adulto. En este mismo año, Stenevi y cols., establecieron las condiciones de supervivencia y desarrollo de los trasplantes de TNE, y en colaboración con otros autores reunieron información para identificar diversos aspectos morfológicos de la relación trasplante-tejido-hospedero. Posteriormente Björklund, en colaboración con Kromer en 1979 y Dunnett en 1982, establecieron la capacidad de los trasplantes para inducir recuperación funcional en modelos experimentales de lesión neurológica. Olson y cols., así como Woodward y cols. en 1977, establecieron que los trasplantes hipocámpicos embrionarios proveen de un excelente modelo para poder estudiar el control y/o la influencia neuronal que existe en la diferenciación y la organización citoarquitectónica durante el desarrollo embrionario, el tejido hipocámpico embrionario (con un estado típico de gestación de 18 a 22 días) contiene neuronas piramidales del hipocampo las cuales usualmente forman una organización laminar de injertos intraoculares. Perlow y Freed en 1979, así como Freed y cols. en 1980, fueron los primeros en reportar la capacidad de los trasplantes de TNE para inducir recuperación funcional en el modelo de lesión unilateral de la vía nigroestriatal; posteriormente, utilizando

#### RECUPERACION FUNCIONAL EN RATAS CON HEMIPLEJIA EXPERIMENTAL

el mismo modelo, Freed y cols. en 1981 establecieron que el trasplante de células cromafines fue igualmente eficaz en la inducción de recuperación funcional. Sin embargo, Gash y cols. en 1980, fueron los primeros en reportar que los trasplantes de TNE hipotalámico inducen recuperación funcional en animales con trastornos congénitos; estos investigadores transplantaron neuronas productoras de vasopresina provenientes de fetos de ratas normales dentro del tercer ventrículo de ratas adultas, aliviando la polidipsia y la poliuria de los receptores, reafirmado la hipótesis de que, aún en los adultos, es considerable el potencial de plasticidad en el SNC. Por otro lado, Gibson y cols. en 1982 trabajando con el modelo de hipogonadismo congénito en ratones, corroboraron la capacidad de los trasplantes hipotalámicos para inducir recuperación funcional. Low y cols. (1982), demostraron que la reinervación en la formación hipocampal después de haber transplantado neuronas embrionarias, pueden ayudar a la recuperación parcial en la ejecución de tareas de aprendizaje en ratas, esta recuperación fue significativa al comparar con grupos no transplantados cuando en ambos grupos se inyectó sistemáticamente un inhibidor de la acetilcolina: la fisostigmina. Dunnell y cols. (1982), retomando la técnica de trasplante en el sistema hipocampal de ratas adultas, realizaron injertos de TNE en suspensión en ratas adultas con lesión bilateral en la *fimbria formax*, obteniendo aproximadamente seis meses después, una recuperación funcional de los déficits en el aprendizaje provocados por la lesión. Los trasplantes neurales manifestaron largo tiempo de sobrevivencia, una buena reinervación de la zona dañada, realizaron sinapsis funcionales con las células del tejido hospedero. Freed y cols. transplantaron tejido de la *substantia nigra* entre ratas con sistema inmunológico incompatible, una vez hechos los injertos, estos se desarrollaron normalmente y fueron funcionales. Backlund, Olson y Sieger (1982) fueron los primeros en utilizar tejido de la médula adrenal productor de dopamina, transplantándolo directamente dentro del núcleo caudado del cerebro humano para corregir los síntomas de la enfermedad de Parkinson. Los resultados obtenidos con base en un experimento no controlado mostraron datos alentadores comparándolos con resultados obtenidos en animales, sugiriendo una perspectiva alentadora en el uso de los trasplantes para corregir problemas cerebrales. Por otro lado, el grupo de Wyatt, así como Morihisa, Nakamura y Mishkin, destruyeron la *substantia nigra* de siete monos, cinco de ellos recibieron injertos de tejido de *substantia nigra* fetal y los dos restantes recibieron injertos de su propia médula adrenal. Los resultados reportados por ellos indicaron que un solo individuo de cada grupo transplantado aceptó el injerto, y en los demás individuos el trasplante degeneró y

desapareció (citas en Kolata, 1982).

Diversos estudios indican que los trasplantes de tejido neural generan y reciben conexiones funcionales desde otras áreas cerebrales como lo indicaron Arendash y Gorski en 1982, quienes transplantaron tejido neonatal cerebral (desde el área preóptica de ratos macho neonatos al interior de la misma área de ratas hembras de la misma camada) con resultados positivos; las hembras mostraron aumento de la conducta masculina y femenina durante la etapa adulta, sugiriendo una estrecha relación entre el tejido transplantado y el del cerebro hospedero. Algunos investigadores opinan que este tejido es el óptimo para usarlo en trabajos de trasplantes. Esta opinión se basa en los hechos de que ése tejido neural se obtiene aún durante el periodo prenatal, el cual se comporta como si se hubiera tomado tejido fetal y bajo la observación de que este último se encuentra en un estadio ventajoso para las células, que se dividen con mayor facilidad que aquellas de neonatos u organismos de mayor edad (Marx, 1982).

La capacidad del tejido embrionario para sobrevivir después de haber sido transplantado, ha sido demostrada en injertos entre especies diferentes. El trabajo de Albrink y Green es particularmente relevante ya que transplantaron tejido embrionario de pollo en conejo, cerdo en ratón y no encontraron rechazo alguno del tejido (Low, Lewis y Bunch, 1983). Low y cols. (1983) realizaron trasplantes de células embrionarias del núcleo septal de ratas Sprague-Dawley al cerebro de ratas Wistar adultas. Los resultados que obtuvieron tres meses después fueron que las células neurales embrionarias son capaces de sobrevivir y de exhibir características morfológicas normales típicas de las neuronas, al igual que logran la reinervación colinérgica en la formación hipocámpal. Olson y cols. han sido los que más datos han aportado sobre las conexiones anatómicas y funcionales entre los trasplantes y los tejidos hospederos con trabajos de desarrollo de injertos intraoculares en el sistema nervioso, al igual que Björklund y sus colegas (1979). Estos investigadores han demostrado que los injertos inmaduros del SNC contienen neuronas productoras de dopamina, noradrenalina y serotonina las cuales son capaces de inervar tejido periférico semejante al del iris cuando es transplantado dentro de la cámara anterior del ojo de ratas adultas. Las fibras colinérgicas y adrenérgicas presentes en el iris normal, pueden inervar trasplantes de tejido neocortical, hipocámpal y cerebelar, los estudios electrofisiológicos indican que las fibras forman sinapsis funcionales, como lo indicaron Das (1975), Lund y Hauschka en 1976 y Zimmer (1978), quienes encontraron que el tejido de SNC adulto es capaz de regenerar axones e inervar tejido embrionario transplantado, formando un puente funcional (citas en

Kromer y Björklund, 1979).

Continuando con los estudios sobre regeneración de las vías nerviosas centrales, empleando para ello el modelo experimental de Tello, Albert Aguayo y cols. (1985) demostraron que los axones del SNC fueron capaces de regenerarse, creciendo grandes distancias, cuando el muñón proximal de la lesión se colocó en contacto con nervios periféricos en los cuales degeneraron las fibras nerviosas, y que éstas fueron capaces de establecer contactos sinápticos con estructuras centrales y de conducir potenciales de acción en forma adecuada (Munz y cols., 1984; Rasminsky y cols., 1985). Además combinaron el trasplante de TNE con el de nervio periférico con el fin de generar "puentes" de comunicación entre el trasplante y el cerebro del receptor (Aguayo y cols., 1984). Asimismo, en este modelo se estudiaron las características temporales de regeneración axonal, así como los eventos neuroquímicos que participan en el fenómeno. En 1985 las evidencias experimentales disponibles indicaron la capacidad del TNE de sobrevivir al ser transplantado en el SNC de receptores adultos. Los trasplantes continuaron su diferenciación y establecieron conexiones morfológicas con el tejido hospedero, de igual manera los trasplantes fueron capaces de inducir recuperación funcional, tanto en modelos experimentales de lesión neurológica, como en animales con deficiencias congénitas. Actualmente existen varios trabajos realizados en diversos modelos experimentales de la enfermedad de Parkinson como el de lesión unilateral de la vía nigroestriatal (Freed y cols., 1984; Stromberg y cols., 1984; Herrera-Marschitz y cols., 1984), y el de administración sistemática de metil-fenil-tetrahidropiridina (Bohn y cols., 1987; Barkiewicz y cols., 1987). En estos trabajos se realiza la capacidad de los trasplantes (tanto de tejido nervioso como de células cromafines) para contrarrestar los trastornos motores asociados a las lesiones mencionadas. Con tales antecedentes, Bäcklund, Olson y cols. (1985) llevaron a cabo el trasplante autólogo de células cromafines en pacientes con enfermedad de Parkinson. Los resultados obtenidos en dicho estudio no confirmaron las hipótesis iniciales respecto a la recuperación de los pacientes, pero establecieron la base respecto al uso de la técnica en humanos voluntarios (citas en Fernández, 1987 y Aguilar, 1989). Dunnett, Whishaw, Bunch y Fine (1986) lesionaron el *nucleus basalis magnocellularis* de ratas adultas produciendo déficits en la memoria y el aprendizaje, y en el sistema sensoriomotor produciendo síntomas análogos a la demencia senil (enfermedad de Alzheimer, en humanos), al injertarles tejido embrionario rico en acetilcolina en la zona lesionada, los animales recuperaron gran parte de sus funciones perdidas provocadas por la lesión la cual inicia una producción de factores

neurotróficos que permiten sobrevivir y desarrollar a las células injertadas además de promover la regeneración de fibras dañadas que hacen sinapsis funcionales con el trasplante. A principios de 1987, Madrazo y colaboradores reportaron que el trasplante autólogo de médula suprarrenal en dos pacientes parkinsonianos revertieron en forma significativa su sintomatología. Posteriormente, el mismo grupo reportó resultados similares en otras ocho personas (Drucker y cols., 1988). Estos estudios han sido verificados en forma independiente por Sho-Shu y cols. (1987) en la República Popular de China, y por Allen y cols. (1988) en los Estados Unidos (citas en Aguilar, 1989).

Pezoli y cols. (1988) reportaron que en conjunción con infusión intraventricular de Factores de Crecimiento Neuronal (FCN), los injertos ventriculares de tejido no cromafín o medular adrenal son igualmente efectivos al reducir la concentración de apomorfina en ratas que se lesionaron permanentemente en la *substancia nigra* con 6-hidroxi dopamina. Estos tratamientos fueron mucho más efectivos que la implantación de tejido sin FCN. En suma, los efectos persistieron indefinidamente, aunque en un nivel reducido después de la suspensión de FCN. Los resultados sugieren que el FCN es crucial en los efectos benéficos de los tejidos transplantados como lo reportaron Nieto y cols. (1982), al hacer una cavidad en el cerebro (córtez entorrinal) en desarrollo de ratas adultas, y colocar una pequeña pieza de gel absorbente dentro de esa cavidad para coleccionar el fluido secretado. Ellos notaron que el tejido de SNC en la recuperación de la lesión, depende de las sustancias y procesos que rigen la sobrevivencia neuronal; los análisis del fluido indicaron la presencia de neuronas simpáticas y parasimpáticas las cuales se cultivaron para determinar su actividad neurotrófica. Además, encontraron que las lesiones en los cerebros de rata en desarrollo y adultas, comparablemente estimulados para la acumulación de FCN, incrementaron la actividad en los primeros días, la cual acabó pocos días después de haber ocasionado la lesión. Incluso, ya desde 1945, Raúl May (citado por Aguilar y cols., 1991) al publicar una serie de artículos referentes a la viabilidad de los trasplantes de TNE, reportó ya la existencia de procesos de reinervación por la posible inducción de factores tróficos.

Nilsson y cols. (1988) en sus experimentos utilizaron tejido fetal humano del área de la Banda Septal Diagonal (BSD) de un embrión producto de un aborto espontáneo, dicho tejido fue injertado en la formación hipocámpal de ratas inmunosupresivas adultas sujetas a una lesión por succión en la *fimbria-fornix*; 19 semanas después de la cirugía de trasplante, los análisis microscópicos revelaron gran cantidad de acetilcolinesterasa positiva (AChE+) en los injertos dentro del hipocampo en tres de los cinco hospederos. Los injertos

dieron origen a la reinervación del hipocampo hospedero formando la estructura laminar con características normales. La evaluación inmunológica de los receptores mostró que todos ellos fueron inmunizados por el injerto, esto indica que los injertos de neuronas colinérgicas humanas pueden responder o interactuar con factores que regulan la inervación del hipocampo de la rata.

Hasta el momento, los trasplantes de TNE han mostrado ser eficaces en la restauración de algunos tipos de función. Los déficits de aprendizaje y memoria que aparecen a consecuencia de las lesiones en la sustancia gris cortical o en las fibras nerviosas del haz *fimbria-formix*, así como las asociadas con la vejez, pueden restaurarse en parte mediante trasplantes de TNE. Los trasplantes de células secretoras de hormonas compensan también determinadas deficiencias, ya sean congénitas o inducidas experimentalmente. En el caso de animales de experimentación, los trasplantes de neuronas dopaminérgicas (o incluso de médula adrenal) son capaces de reducir los trastornos motores que ocurren en la vejez o provocados por lesiones que destruyen el núcleo de la *substantia nigra*. En seres humanos, los trasplantes de médula adrenal y, más recientemente de *substantia nigra* embrionaria se han destinado a corregir los síntomas de la enfermedad de Parkinson. En este campo, los trasplantes tienen un comportamiento paralelo al de la dopamina o de los agonistas de la dopamina suministrados exógenamente. No restauran los circuitos iniciales sino que parecen desempeñar una función neuromoduladora. La recuperación funcional que estos trasplantes producen en algunos casos suministra información esencial sobre los requerimientos estructurales mínimos que aquella demanda (Niño y Cotman, 1985).

Si bien, los beneficios y riesgos a largo plazo de esta técnica no son del todo evaluados en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, debido al desconocimiento en los procesos subyacentes a la mayoría de éstas, y de que falta mucho por estudiar respecto a los efectos encontrados a corto y mediano plazo, es indudable que los estudios realizados hasta la fecha abren un nuevo horizonte de posibilidades en cuanto al enfoque terapéutico de las enfermedades neurodegenerativas del SNC y para el estudio de la plasticidad cerebral en el mamífero adulto, así como para el análisis de la organización funcional de diversos circuitos neuronales y de los mecanismos neuroquímicos involucrados.

## 1. ASPECTOS INMUNOLOGICOS

Se podría pensar que algunas reacciones inmunitarias entre el tejido injertado y el hospedero constituirían un problema en este género de estudios. En realidad, el rechazo del injerto de tejido nervioso es menos frecuente que el de otros órganos. Ello quizás, obedezca a que el cerebro es un "lugar privilegiado" en el plano inmunitario, ya que normalmente alberga muy pocas células del sistema inmunitario (linfocitos y macrófagos), debido a que éstas no atraviesan fácilmente la barrera hematoencefálica, por lo que probablemente las células nerviosas expresan en su superficie muy pocos antígenos de histocompatibilidad, con la consiguiente aceptación del injerto. Sin embargo, es preciso reconocer que este "privilegio inmunitario" es parcial. El trasplante de injertos cerebrales entre especies diferentes o entre individuos tomados al azar de una población puede llevar a serios problemas que no han sido estudiados de manera exhaustiva. Por ejemplo, en 1986, con los trabajos del grupo de N. le Douarin, ha quedado claro que los injertos de tejido nervioso codomiz-pollo pueden producir enfermedades degenerativas del tejido nervioso ligadas a un problema de naturaleza inmunológica (Dunnell y Björklund, 1987a).

Estando ya establecido que si bien el rechazo de tejido es uno de los mayores problemas cuando se transplantan órganos y tejidos a la periferia, esto no ocurre cuando se transplantan al cerebro. Por esta razón, se considera que el cerebro es un sitio inmunológicamente privilegiado (Baker y Billingham, 1977; Raju y Grogan, 1977; citados por Aguilar y cols., 1991). El trasplante de tejido nervioso entre animales de diferentes camadas e incluso de diferentes cepas se ha realizado con éxito. A la fecha no existen reportes de rechazo de ninguna de las áreas estudiadas. El trasplante entre animales de diferentes especies ha sido menos exitoso como anteriormente se citó. Se han reportado períodos máximos de sobrevivencia de 6 meses. En estos trabajos, se ha sugerido que las células que migran más allá de la barrera hematoencefálica escapan al rechazo. El tratamiento con inmunosupresores incrementa la supervivencia del trasplante, como lo han demostrado estudios en que se administra ciclosporina-A en ratas que reciben trasplantes de corteza cerebral de ratón (Aguilar y cols, 1991).

La razón por la cual el cerebro es un sitio inmunológicamente privilegiado se desconoce. Se ha sugerido que los siguientes factores pueden intervenir en dicho fenómeno (Aguilar y cols., 1991):

1) Presencia de la barrera hematoencefálica (Björklund y cols., 1981).

Su participación no es fundamental en el fenómeno. Todas las técnicas de

transplantes que se usan actualmente implican lesión de la barrera. A pesar de ello, los transplantes sobreviven adecuadamente.

2) La interrupción del brazo del sistema inmune, es decir aquella porción del sistema que detecta la presencia de antígenos ajenos al organismo (Freed, 1983).

Se ha sugerido que los antígenos asociados a cualquier tipo de transplantes no se exponen al sistema inmune. Algunos reportes indican que el transplante de tejido nervioso al cerebro es incapaz de inducir sensibilización del sistema inmune del animal receptor. Sin embargo, cuando dicho sistema es sensibilizado previamente por transplantes de piel, se produce rechazo inmediato del transplante. Dichos resultados indican que las células inmunológicas capaces de provocar rechazo de transplantes de neuronas, no identifican los antígenos de las células colocadas en algún sitio del SNC.

3) La escasez relativa de macrófagos fijos en el SNC (Tze y Tai, 1984).

Es posible que esta escasez sea debida a la presencia de las células de la microglia que son capaces de fagocitar cualquier material degenerado o cuerpo extraño dentro del SNC (Barr, 1974).

4) Las células nerviosas expresan en su superficie muy pocos antígenos de histocompatibilidad (Dunnell y Björklund, 1987a).

Las células embrionarias somáticas durante su proceso de maduración, al interactuar con el medio que les rodea, expresan características que le permiten ser reconocidas por el sistema inmune común a todas ellas, desarrollando antígenos en la superficie celular. Se sugiere que las células de TNE, que aún no se han diferenciado, no expresan esas características debido a que en su medio la interacción con cualquier molécula extraña se ve limitada por la presencia de la barrera hematoencefálica encargada de seleccionar el paso de moléculas al cerebro necesarias para el metabolismo neuronal (Goldstein y Betz, 1986), por lo que es muy probable que no exista reacción inmunológica por los macrófagos y linfocitos hacia el tejido transplantado al producir una lesión intracraneal por medio de la introducción de una cánula (Pearlson y Robinson, 1981).

## VII. PLASTICIDAD CEREBRAL

A través de las décadas, los científicos de todo el mundo han estudiado el curso de los procesos mentales: de la percepción y la memoria, del lenguaje y el pensamiento, de la organización del movimiento y de la acción. Su intenso estudio en el contexto de las ciencias conductuales ha aportado incalculable información sobre los mecanismos que gobiernan estos procesos. Sin embargo, aún en la actualidad se desconocen numerosos procesos básicos en los que se apoyan dichas funciones, y más que esto, son desconocidos también la mayoría de los procesos cuando, en partes individuales del cerebro, ocurren perturbaciones por accidentes o son destruidas por alguna enfermedad. El cerebro, del ser humano, ha llegado a ser considerado como un sistema funcional altamente complejo y de estructura única que representa un problema muy difícil de resolver, obviamente, no será resuelto mediante la invención especulativa de esquemas o "modelos del cerebro como una computadora". Por todo lo anterior, para poder conocer los principios que rigen las interacciones intrínsecas y extrínsecas del cerebro, es necesario realizar numerosos estudios de campos de la ciencia involucrados en el estudio del Sistema Nervioso (SN), aportando cada una su propia contribución para que en conjunto puedan esclarecer dichas interacciones.

Algunos tejidos del cuerpo mantienen la capacidad de formar nuevas células a partir de precursores existentes a lo largo de la vida de organismo. Por ejemplo, las células de la piel están constantemente cambiando y el hígado puede regenerar la mayoría de su sustancia, el SN está muy limitado en ese sentido. Se conocen algunos ejemplos, como las células receptoras olfatorias de los vertebrados, en las que hay un continuo cambio de células en el adulto. Sin embargo, parece ser una regla general aplicable tanto en invertebrados como en vertebrados, en que una vez completados los procesos de desarrollo apenas hay o no hay más generación de nuevas células nerviosas. Esto, por supuesto, es la principal razón por la que las lesiones del SN tienen efectos tan devastadores (Shepherd, 1985).

Por otro lado, considerando las características morfológicas, bioquímicas y bioeléctricas del cerebro, es un hecho que se lleven a cabo distintos procesos plásticos en los organismos según su nivel ontogenético. Las distintas especies difieren en la forma en como responden al medio ambiente, de tal manera que su comportamiento también lo hace. Si a todo esto sumamos la pérdida de alguna función por daño cerebral, sea cual

fuere su origen, el fenómeno implica y, de hecho, activa los procesos plásticos, como lo indicó Paul Bach-y-Rita: "El cerebro de los mamíferos es plástico, éste puede recuperarse por medio de respuestas morfológicas y fisiológicas ante la injuria", posteriormente el mismo Bach-y-Rita junto con Rosenzweig en 1980 postularon que "La recuperación de funciones perdidas por el daño cerebral, incluye un restablecimiento de una función, a la vez que su incremento produce cambios en algún nivel del SNC".

### 1. EL CONCEPTO DE PLASTICIDAD CEREBRAL

A partir de la información acumulada de estudios neurológicos, surge el concepto de Plasticidad Cerebral (PC):

- Baldwin y Poulton (1902) definieron a la PC como la propiedad de la sustancia viviente o de un organismo por la cual, al ser alterado, produce cambios en las condiciones de vida.

Después de un tiempo y bajo la reciente influencia de Darwin, la discusión del término plasticidad se limitó en el origen del hombre y su papel en la evolución de este. En los años treinta y cuarenta, la plasticidad fue el centro de atención.

- Bethe (1930) consideró a la PC como la habilidad para adaptarse a los cambios y enfrentar los peligros de la vida, siendo la capacidad del SNC de reorganizarse siguiendo a un daño y restaurar la función perdida.
- Konorski (1948) distinguió a la PC como un cambio en el SNC de características duraderas en contraste con la excitabilidad la cual representa un cambio momentáneo.
- Luria (1973) definió la PC como la capacidad del SN para reorganizarse dinámicamente y dar como resultado la restauración de la función.
- Bach-y-Rita (1980) describió la PC como la capacidad del SNC para modificar su propia organización y funciones.
- Gollin (1981) indicó que la PC se refiere a los rangos posibles de variación que pueden ocurrir en el desarrollo de un individuo.
- Kolata (1982) señaló que la PC se lleva a cabo mediante interacciones intrínsecas y extrínsecas nerviosas, de tal modo que, el cerebro se proporcione así mismo la posibilidad de recuperar funciones perdidas que han sido provocadas por el daño que no rebasa al umbral de la imposibilidad de respuesta ante el mismo, llegando así al conocimiento de poder determinar las posibilidades de recuperación en cierto grado, además de poder inducir a ésta mediante el empleo de sistemas terapéuticos,

concluyendo que no sólo el cerebro retiene la mínima capacidad de desarrollo y cambios a través de la vida, sino mantiene la capacidad de restaurarse asimismo un espacio dañado.

- Sigman (1982) describió el concepto de PC como la capacidad de los organismos para modificarse por acción del medio ambiente.
- Nieto (1982) consideró que el término plasticidad se remite a la capacidad del SN para cambiar en respuesta a presiones ambientales, lesiones o modificaciones en el estado interno del organismo.
- Lemer (1984) refirió el término plasticidad como los procesos por los cuales se desarrolla una capacidad para modificar una conducta y ajustarla a las demandas ambientales.
- deGroot y Chusid (1989) definen a la PC como una propiedad del SN que produce cambios estructurales en respuesta a la experiencia y adaptación a condiciones ambientales y estímulos repetidos.

Lo ambiguo de las definiciones y conceptos sobre la plasticidad y en particular la PC hasta el momento, dan evidencia que realmente no se conocen aún la mayoría de los procesos que rigen al fenómeno.

## 2. MECANISMOS PLASTICOS INVOLUCRADOS EN LA RECUPERACION FUNCIONAL DESPUES DEL DAÑO CEREBRAL

La incapacidad para generar nuevas neuronas en el SNC es evidente. Aunque esto ocurre, cada neurona conserva su capacidad para formar nuevas extensiones y nuevas conexiones sinápticas. Así, aunque el cuerpo de la célula es un componente relativamente fijo dentro de cada centro del SNC adulto, con un estímulo apropiado ésta puede tener la capacidad de regenerar sus circuitos, ya que los circuitos sinápticos que forman con las expansiones de otras neuronas están animales a modificación continua. Este estímulo puede ser una perturbación, como lo es un trauma o alteración metabólica, o uno más sutil, como es el aprendizaje de una nueva tarea o conducta, así como un injerto de tejido neuronal embrionario (Colman, 1989). De tal manera, los estudios de PC pueden ser clasificados dentro de tres categorías generales: (1) Estudios que adoptan el "método de lesión experimental" para la investigación de los efectos de las lesiones cerebrales en el SN de los organismos, y la recuperación del SN desde una condición "patológica" inducida experimentalmente, Colman y Nieto (1982); (2) Los estudios que evalúan los efectos de la

experiencia en el SN, en donde "la experiencia puede ser aplicación de estimulación eléctrica en una o más porciones del SN o puede involucrar un mejoramiento en el medio ambiente físico y/o las manipulaciones medio ambientales sociales, Greenough y Green, (1981) y recientemente, (3) estudios de recuperación de ciertos procesos cognoscitivos mediante trasplantes de TNE (Bermúdez y cols., 1987). Para intentar explicar el proceso de recuperación se proponen dos mecanismos plásticos importantes: brote axónico y renovación de sinapsis.

#### A. BROTE AXONICO

El brote axónico se define como un proceso de crecimiento y formación de axones o terminales derivados de neuronas no dañadas. Según el punto axónico de origen del brote, se distingue entre brotes terminales o ultraterminales y brotes colaterales. Los brotes terminales o ultraterminales son prolongaciones de la terminal presináptica, las colaterales surgen como una nueva rama del axón, independiente de otras terminaciones nerviosas que ya hubiera. Cuando el brote colateral se origina en el nódulo de Ranvier de un axón mielinizado recibe la denominación de brote nodal, si el brote se origina como continuación renovada del muñón de un axón seccionado se denomina regenerativo (Nieto, 1985; Colman, 1989). En algunas ocasiones éste término suele confundirse con el de regeneración, sin embargo, éste es una variante del brote axónico distinguiéndose de la regeneración en que es un proceso por el cual las neuronas lesionadas por un traumatismo hacen volver a crecer sus conexiones hacia el área que inervaban previamente. La regeneración se produce de forma común en el Sistema Nervioso Periférico (SNP), donde las neuronas sensoriales y motoras envían fibras nuevas para volver a inervar sus objetivos previos. Se cree que las células de Schwann, las células que proporcionan la mielina en las fibras periféricas, se multiplican y forman un tubo o túnel que guía a las fibras que se están regenerando hacia su destino adecuado. En tanto que en el SNC la regeneración no se lleva a cabo, ya que los oligodendrocitos que forman la mielina no proliferan y también porque la cicatrización puede bloquear el nuevo crecimiento (Kolb y Whishaw, 1986).

Cuando los axones del SNC son separados, la conectividad local puede ser restablecida por el crecimiento de procesos celulares dañados o de la extensión de brotes colaterales de neuronas adyacentes no dañadas. Axones seccionados crecieron grandes distancias en el SNP y en SNC de peces e invertebrados, en los mamíferos los axones del SNC raramente crecieron más que unos pocos milímetros a través del área dañada. Ramón-

y-Cajal atribuyó esto al ambiente "inhóspito" del SNC, en efecto, parece ser que los axones del SNC de mamíferos tienen la habilidad de elongarse distancias sorprendentes cuando se presentan con el medio celular apropiado. El trabajo de Aguayo y cols. (1986; citado por Cotman y Nieto, 1984) demostró que varios axones centrales pudieron crecer grandes distancias cuando se fijó una porción de nervio periférico, concluyéndose que la regeneración axonal depende más del ambiente y de la influencia de condiciones extrínsecas, como factores de crecimiento.

Kromer, Björklund y Stenevi (1980) seccionaron la vía colinérgica, que inerva el *septum* desde el hipocampo, después transplantaron tejido cerebral embrionario en este lugar y encontraron que las fibras colinérgicas que se regeneraban crecían a través del puente para volver a inervar el hipocampo en lo que parecía ser la forma normal. Una característica particularmente interesante de estos resultados es que el tejido embrionario, además de proporcionar el puente, estimula la regeneración del sistema lesionado.

La formación hipocámpal, que ha sido un buen modelo para el estudio de los procesos plásticos de reorganización del sistema aferente intrínseco seguido de lesión parcial al igual que diversas estructuras que proyectan sus fibras hacia la *fascia dentata*, muestra una respuesta de brote axonal después de haber sido seccionadas un gran número de sus fibras. La proliferación de las fibras reinerva las regiones dañadas (Mäner y Loy, 1980).

Las conexiones neuromusculares del adulto se pueden regenerar después de que el nervio ha sido seccionado. Los extremos de los axones cortados experimentan una transformación a conos de crecimiento y se abren camino hacia el músculo denervado. Ahí forman sinapsis preferentemente en las zonas en que existían las sinapsis anteriores, zonas que están marcadas por un carácter especial de la lámina basal sináptica. Mientras que, evidentemente la lámina basal sináptica causa la formación de una terminación sináptica estable en el axón en crecimiento, otros factores pueden producir una transformación contraria y provocar el desarrollo de conos de crecimiento a partir de una terminación adulta. Dichos factores desempeñan un importante papel en la regeneración de las conexiones neuromusculares después de que se han destruido algunas de las células nerviosas, pero no todas, que inervan un músculo. En estas circunstancias, las fibras musculares degeneradas segregan un factor difusible que estimula la formación de nuevos conos de crecimiento a partir de las terminales nerviosas supervivientes de las fibras musculares inervadas vecinas. Los brotes crecen hasta reinervar las fibras musculares degeneradas (Brown y cols., 1981; Lethuillier, 1987).

Los substratos sobre los que se desplazan los conos de crecimiento en el animal vivo no están bien caracterizados, y la mayor parte de los factores que guían a los conos de crecimiento en su desarrollo normal y controlan su ramificación aún están mal comprendidos (Wessells, 1980). Los conos de crecimiento de algunos tipos de neuronas también se guían por moléculas quimioatráctiles como los FCN. Además de ser guiado por las interacciones de contacto, un cono de crecimiento es susceptible a los efectos de las moléculas disueltas en la sustancia extracelular. La supervivencia y crecimiento durante el desarrollo de ciertos tipos de células nerviosas dependen del FCN, que se supone está segregado por las células diana de estas células nerviosas (Levi-Montalcini y Calissano, 1979).

La identificación química del FCN, como primera de las múltiples sustancias que han de ser descubiertas y que probablemente han de regular el desarrollo neuronal, han hecho posible el inicio de un análisis de su acción a nivel molecular. Aunque se han llegado a comprender algunos de los mecanismos para la formación de las sinapsis en algunas partes del SNP, estamos aún lejos de este objetivo en el SNC (Ebendal y cols., 1980).

#### B. RENOVACION DE SINAPSIS

Los cambios en número y clase de sinapsis están mediados por un proceso general denominado renovación de sinapsis, el cual consta de cuatro etapas:

1. Desconexión de los viejos contactos sinápticos.
2. Iniciación y crecimiento de nuevos terminales axónicos.
3. Formación y establecimiento de nuevos contactos sinápticos.
4. Maduración de las nuevas sinapsis.

La renovación de sinapsis en el SNC maduro es un proceso fisiológico normal del organismo, además de que es evocado por estímulos que no entran en el desarrollo normal de éste. Cuando la renovación de sinapsis es evocado por estímulos que no provocan daño ni lesión, recibe el nombre de natural o espontánea para distinguirla de la producida por lesiones, en cuyo caso recibe el nombre de sinaptogénesis reactiva, siendo ésta un proceso particular de la renovación de sinapsis (Cotman y Nieto, 1984; Cotman y Anderson, 1989).

Un ejemplo de estímulo que no provoca daño, pero que puede evocar la renovación sináptica natural es el uso de ambientes para evaluar los efectos de la experiencia en el SNC. Así, en 1979, Phys y Weiss colocaron ratones adultos durante 17 días en condiciones de AR, los resultados mostraron un incremento del 23% en el número de espinas dendríticas de

las células de Purkinje, superior a lo observado en los cerebelos de ratones colocados en AP. En 1978, Uylings y cols. observaron un incremento de las ramificaciones dendríticas por arriba del 10% en la corteza occipital de ratas que se mantuvieron en condiciones de AR (citas en Colman y Nieto, 1984). Sin embargo, ante las dificultades técnicas para demostrar la renovación espontánea de las sinapsis, las investigaciones se han centrado en los sistemas en los que dicha renovación se inicia mediante los estímulos experimentales que provocan lesión.

Al lesionar unilateralmente en la corteza entorrinal se presenta la pérdida del 90% de las sinapsis en los dos tercios de la capa molecular del giro dentado del mismo lado que la lesión. Esa pérdida masiva del aferente (deafferentación) constituye la señal que inicia la restitución de las sinapsis y conduce a la reorganización de los circuitos del hipocampo. Las nuevas sinapsis se forman a partir de brotes de los axones no afectados por la lesión. Así, la proyección entorrinal precedente del lado opuesto al lesionado (contralateral) y las fibras procedentes del septum, ambas inicialmente débiles en la zona dañada aumentan hasta ocupar aproximadamente toda la mitad externa de la capa molecular, los axones procedentes de las células piramidales del hipocampo, que inicialmente ocupaban sólo el tercio interno de la capa molecular, se expanden hasta cubrir casi la mitad de ésta. El proceso de sinaptogénesis reactiva, comienza a los tres o cuatro días después de la lesión, cuando aparecen los primeros brotes axónicos, alcanza un máximo entre los 15 y 20 días y no concluye hasta dos o tres meses después. Este proceso no se restringe a las zonas directamente afectadas por la lesión, así, entre 2 y 10 días después de producida la lesión, el 22% de las sinapsis existentes en la capa molecular interna de la fascia dentata ipsilateral experimentan un ciclo de renovación. Un fenómeno similar, aunque mucho más lento se observa en la zona análoga del hemisferio cerebral opuesto. Ninguna de estas áreas del hipocampo recibe proyecciones de la corteza entorrinal y los ciclos de renovación sináptica parecen ser una respuesta compensatoria de las neuronas granulares a la pérdida de aferentes en la parte externa de su árbol dendrítico. El fenómeno trasciende las sinapsis de las neuronas afectadas: las sinapsis formadas por los axones de las células granulares con las neuronas piramidales del hipocampo experimentan también un pronunciado ciclo de renovación en respuesta a la lesión. Aunque los principios de la sinaptogénesis reactiva han sido cuidadosamente definidos en la formación hipocampal, otras regiones del SNC también tienen una capacidad para la renovación de sinapsis después de denervación parcial. Las mismas reglas básicas que gobiernan la plasticidad en la formación hipocampal también

se aplican a áreas tales como el núcleo septal y la *fimbria-fornix*. Una transección fimbrial en el núcleo septal lateral, provoca sinaptogénesis reactiva; sin embargo, la pérdida de aferentes es preferentemente reemplazada homeoópicamente por fibras de la fimbria contralateral. Con una transección fimbrial bilateral, las sinapsis son reemplazadas en el septum por un proceso posiblemente heterotípico, pues es aún desconocido la fuente de aferentes. Si la *fimbria-fornix* o cerebro anterior medio es transectado, la pérdida de sinapsis por las neuronas septales medias son reemplazadas por sinapsis heterotípicas de las remanentes aferentes. En las áreas motoras del SNC también se demuestra los principios de brote axónico y sinaptogénesis reactiva. El núcleo rojo está implicado en el control de los movimientos voluntarios y reflejos, y con este fin se proyecta hasta la médula espinal. Las neuronas magnocelulares del núcleo rojo, reciben dos tipos de aferentes muy distintas. Las aferentes de la corteza motosensorial que terminan en la porción distal del árbol dendrítico y las provenientes del cerebelo que acaban en el cuerpo celular. Si las aferentes cerebelares se interrumpen, las aferentes sinápticas de las neuronas magnocelulares son reemplazadas por sinapsis de aferentes corticales. Las entradas al cerebelo y la corteza motora normalmente llenen una distribución distinta a lo largo de las neuronas: las aferentes cerebelares terminan en el soma y dendritas proximales; las sinapsis de las aferentes corticales en las dendritas distales. Después de una lesión en las vías cerebelar-rubral, tanto la actividad electrofisiológica como las observaciones morfológicas demuestran que las aferentes corticorubrales brotan y ocupan la zona vacante dendrítica más proximal por las aferentes cerebelares dañadas. El rearrreglo sináptico en el núcleo rojo puede ser inducido en la ausencia de lesiones directas, en respuesta a una inervación cruzada de los nervios flexor y extensor del miembro anterior. De dos a seis meses después de la inervación cruzada, la transmisión sináptica es realizada en el núcleo rojo, mostrando propiedades consistente con las nuevas sinapsis adyacentes (proximales) en el soma. Un efecto similar se produce en respuesta al condicionamiento clásico de la flexión en respuesta a la estimulación eléctrica del núcleo rojo. Los datos sugieren que la inervación de fibras corticales de las dendritas distales del núcleo rojo brotan terminales adicionales que forman sinapsis a lo largo de regiones de las dendritas más proximales a los cuerpos celulares durante la adquisición de respuestas aprendidas. Estos estudios sugieren que el reemplazamiento sináptico provocado por las lesiones puede formar algunos de los mismos mecanismos de la renovación sináptica inducida cuando no hay daño (Colman y Anderson, 1989).

Así, Scheff, Bernardo y Cotman (1978) determinaron que neuronas adrenérgicas de ratas senescentes retuvieron la capacidad de ramificarse después de dañar el área septal y el giro dentado, pero en niveles muy bajos: "La plasticidad neuronal ha sido demostrada por varias aferencias hipocámpicas que retoñan sólo bajo ciertas condiciones después de haber sido seccionadas selectivamente" (Björklund y Stenevi, 1976; citados por Crutcher y Collins, 1982). Similarmente, Cotman y Scheff (1979; citados por Lerner, 1984) concluyeron que la extensión de las proyecciones comisurales y conexiones después de provocar lesiones en la corteza entorrinal de ratas viejas y jóvenes, fueron significativamente menores en el grupo de ratas más viejas. Bregman y Goldberger (1982; citados por Lerner, 1984) establecieron también que, aunque el daño de médula espinal en gatos neonatos tuvo distintos efectos en diferentes vías espinales, las proyecciones corticoespinales exhibieron plasticidad anatómica en vías en donde la médula espinal experimentó degeneración retrógrada masiva. Sin embargo, ninguno de estos cambios ocurrieron en los gatos adultos. Cotman y Nieto (1982), reportan: "la clase de plasticidad que aparece, incluye una renovación sináptica". Venable y cols. (1989) reportaron que la estimulación positiva en ratas antes y recién nacidas, incrementa los segmentos dendríticos tanto en número como en longitud sugiriendo estos resultados que el cerebro dendrítico es más flexible y plástico, mientras más joven sea el individuo, pues a medida que este envejece los resultados se manifiestan de manera mas pobre.

La formación o eliminación de una sinapsis es un acontecimiento cuyas consecuencias pueden perdurar durante toda la vida. Además, el ejemplo de la unión neuromuscular demuestra que la formación de sinapsis puede estar regulada por la actividad eléctrica. Aunque los estudios del SNC son mucho más difíciles, existen razones para creer que también se pueden aplicar a él algunos principios similares. Tanto en el SNC como en el SNP, parece que el patrón de conexiones sinápticas es plástico: la experiencia puede moldearlo estimulando o inhibiendo la actividad eléctrica de forma que puede ejercer una influencia duradera sobre los patrones posteriores de comportamiento. De esta manera, el SN puede estar dotado de una memoria a largo plazo. Aunque esta generalmente admitido que la memoria depende de cambios sinápticos, aún es dudoso hasta que punto estos cambios se producen a gran nivel, a través de alteraciones de la estructura neuronal visibles al microscopio, y hasta qué punto implican modificaciones más sutiles que alteran la eficiencia de la sinapsis, sin variar su geometría. Se han descrito casos evidentes de plasticidad a ambos niveles. Indudablemente, los cambios estructurales son

importantes para algunos efectos a largo plazo, pero requieren demasiado tiempo para explicar la memoria a corto plazo en la escala del tiempo de minutos u horas. Se cree que los efectos a corto plazo dependen de la regulación de los canales iónicos (Tsukahara, 1981).

Hasta el momento se han tratado por separado estos dos mecanismos plásticos, sin embargo, las terminales presinápticas que participan en la renovación de sinapsis nacen de axones preexistentes mediante el proceso de formación de brote axónico. Así, existen muchas cuestiones relativas en torno a la plasticidad en el SNC que la técnica de los trasplantes permite abordar. La reinervación por medio de los trasplantes difiere de la sinaplogénesis reactiva en que las nuevas fibras que entran a la región blanca viajan relativamente grandes distancias, mientras que el brote ocurre solamente de manera local. El crecimiento de fibras de los trasplantes de TNE ha mostrado que son extremadamente específicos, tanto en los blancos que inervan como en los modelos de fibras y sinapsis que forman al final. La especificidad selectiva de los trasplantes se puede ilustrar con dos ejemplos: neuronas colinérgicas septales que se transplantaron en el hipocampo, en una cavidad fimbrial, o en la corteza entorrinal y que reprodujeron los patrones normales de la innervación colinérgica del hipocampo y de la corteza entorrinal después de haber removido las entradas colinérgicas originales. Otras áreas adyacentes que normalmente no reciben inervación de las fibras colinérgicas, por ejemplo, la capa molecular del giro dentado, no fueron inervadas por el trasplante, aunque estas regiones pueden ser parcialmente denervadas durante el proceso de trasplante. Similarmente, trasplantes de corteza entorrinal inervaron regiones específicas del hipocampo hospedero y amígdala, las mismas áreas en las cuales la corteza entorrinal normalmente se proyecta. Los trasplantes de tejido dopaminérgico, noradrenérgico, serotoninérgico y colinérgico en el hipocampo formaron cada uno un patrón de inervación que se asemejó a las características originales de inervación por cada tipo de transmisor. Además, injertos de neuronas colinérgicas del septum, habenula y estriado dentro del hipocampo pudieron reproducir el patrón de fibras colinérgicas nativas de éste; sin embargo, la tendencia de inervar este blanco difiere entre los tres tipos de injertos. Aunque los injertos septales densamente inervaron el hipocampo, los injertos habenulares mostraron menos inervación y los injertos del estriado inervaron solamente de 100 a 200  $\mu$  de la interfase trasplante-hospedero. La morfología de las sinapsis formadas por las neuronas transplantadas estuvieron también correlacionadas al fenotipo transmisor, al menos en la primera aproximación. Los trasplantes de neuronas

serotoninérgicas formaron sinapsis con los blancos hipocámpales que son característicos de la inervación serotoninérgica normal. En particular, las características ultraestructurales de los axones serotoninérgicos incluyeron la presencia de grandes ensanchamientos axonales no sinápticos y una baja proporción de terminales sinápticas que son enteramente asimétricos. Las neuronas septales, habenuares y estriadas formaron sinapsis con los blancos hospederos que se asemejan a los tipos originales de los contactos colinérgicos. Las fibras colinérgicas estuvieron desprovistas de ensanchamientos axonales y las sinapsis en apariencia fueron simétricas o asimétricas. La restauración de conexiones sinápticas por medio de los trasplantes habenuar o estriado se dio a pesar del hecho de que las neuronas estuvieron colocadas en un área del cerebro en que normalmente no inervaban. La competición selectiva entre el hospedero y las fibras transplantadas se ha demostrado en varios sistemas. Por ejemplo, trasplantes septales (colinérgicos) reinervaron el hipocampo cuando las aferentes colinérgicas originales fueron removidas, por lo tanto, la cantidad de reinervación de los injertos es limitada si éstos se colocan en hospederos intactos. La inervación es significativamente deteriorada cuando el blanco está masivamente deafferentada por la eliminación de otras entradas. Similarmente, los trasplantes entorrinales no inervaron el hipocampo hospedero, ya que la denervación del blanco se hizo por medio de lesiones septales, mientras que las entradas entorrinales originales permanecieron intactas. Parece ser que hay una interacción competitiva entre los trasplantes homólogos y las fibras hospederas. Se conoce poco acerca de las entradas del hospedero a las neuronas transplantadas. Las neuronas injertadas reciben entradas sinápticas de las neuronas locales, y las células dentro del injerto probablemente inervan otras neuronas injertadas. Los trasplantes de corteza entorrinal recibieron entradas de solamente tres de las ocho grandes proyecciones que inervan a la corteza entorrinal intacta. Es interesante que ninguna de estas entradas están normalmente mielinizadas, sugiriendo que las fibras mielinizadas pueden estar asociadas con la dificultad de la inervación de trasplantes (Nieta y Colman, 1985; Colman y Anderson, 1989).

### 3. RECUPERACION FUNCIONAL COMO CONSECUENCIA DE LA PLASTICIDAD CEREBRAL

Ejemplos de recuperación funcional en el SNC lesionado han sido observados desde hace mucho tiempo, pero los procesos que permiten los distintos tipos de recuperación no han sido, en su mayoría, descritos. La secuencia de cambios durante la recuperación puede manifestarse inmediatamente o bien en varios años (Kaplan, 1988). En los siguientes estudios

se da evidencia de la recuperación de funciones impedidas por lesiones cerebrales, pudiéndose identificar que ésta es producto de los mecanismos plásticos que se llevan a cabo en el SN.

Diversos trabajos de rehabilitación realizados en humanos han aportado evidencia en torno a la recuperación de funciones después del daño cerebral motor. Investigadores como Guffman (1953; citado por Miranda, 1985), Brundy (1974), Bach-y-Rita (1980), Palacios y cols. (1981), entre otros, reportaron la recuperación de personas con lesión cerebral de carácter motor (cuadriplejía, hemiplejía, parálisis facial, etc.), utilizando terapias de retroalimentación biológica y/o algunas terapias que tenían diferentes tareas que forzaban el uso de la función.

Bucy, Keplinger y Siqueira (1964) estudiaron a un hombre que tenía cortado el tracto piramidal en el tronco encefálico inferior como tratamiento para los movimientos involuntarios. Durante las primeras 24 horas después de la lesión se presentó una hemiplejía completamente flácida, que fue seguida de una ligera recuperación del movimiento voluntario en sus extremidades. Al décimo día era capaz de ponerse de pie sólo y de caminar con ayuda. Al vigésimo cuarto día podía caminar sin ayuda. Al cabo de siete meses pareció haberse alcanzado la recuperación máxima, podía mover sus pies, manos, dedos de las manos y de los pies con muy pocas dificultades. Al hacerle la autopsia, dos años y medio después, se vio que el 17% de las fibras del tracto piramidal estaban intactas. La recuperación de su capacidad para mover los dedos de los pies y de las manos parece atribuible a este 17% de las fibras, que realizaban el trabajo que antes efectuaba el tracto entero. Los experimentos de Lawrence y Kuyper (1968; citados por Kolb y Whishaw, 1986) con lesiones del tracto piramidal en monos *Macaca sp* determinaron que algunas fibras que no habían sido lesionadas podían mantener los movimientos de los dedos relativamente independientes, aparentemente sin tener relación con la localización de las fibras.

Si bien, el tratar de restaurar el daño cerebral en el humano es aún muy difícil debido a las técnicas empleadas, los modelos en animales de las enfermedades neurodegenerativas y de lesiones en humanos proveen de una metodología excelente para ir afinando cada vez más un tratamiento para cada una de las enfermedades que se presentan en el SNC humano. De este modo, investigaciones en ratas Wistar adulto en el modelo experimental de la hemiplejía, ponen de manifiesto los procesos plásticos en el SNC después de una lesión unilateral en la CI, los animales lesionados en la parte baja de esta estructura manifiestan una parésis, misma que se revierte a los seis meses si el grado de la

lesión de fibras es aproximado al 100%; el período de recuperación se puede disminuir si la extensión de la lesión abarca menos del total de las fibras de la vía piramidal (Miranda, 1985). La lesión de la corteza cerebelosa de ratas adultas produce, entre otros efectos, la disminución de la locomoción, asimetría e incoordinación motora en general; los trasplantes de la corteza cerebral a estos animales disminuyen dichas alteraciones. Este efecto se correlaciona con la integración morfológica de la corteza cerebelar transplantada al cerebro receptor (Wallace y Das, 1982). Las ratas adultas con lesión bilateral de la *substantia nigra* en el modelo del mal de Parkinson, exhiben anomalías motoras debido a la pérdida de neuronas dopaminérgicas por efecto de la lesión, los trasplantes de TNE dopaminérgico reducen o eliminan los déficits en la vía nigrostriatal, es decir, existe recuperación de la función. Un modelo similar se presenta con los trasplantes septales al hipocampo de hospederos adultos que debido a la lesión de esta zona, presentan déficits en la memoria, después del injerto hay recuperación de la función pero no hay restauración de los circuitos neuronales dañados; probablemente las células injertadas proveen de factores que promueven la restauración de la función alterando los niveles de excitabilidad celular y de la actividad espontánea en las células adyacentes a la lesión (Colman y Anderson, 1989).

### VIII. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La revisión efectuada de los diferentes trabajos en torno a la influencia del ambiente han dejado clara la relación entre este y la recuperación de funciones perdidas por el daño cerebral; el AR favorece y estimula la recuperación después del daño cerebral, el AP la obstruye o la retarda, en tanto que el AE se ha considerado en algunos trabajos como un control de los ambientes anteriores, sin embargo, poco se conoce en realidad el papel que juega éste último, aunque recientemente se ha usado como un modelo de recuperación pasiva.

Por otra parte, de los transplantes de TNE, se ha reportado que estos inducen recuperación funcional después de lesiones o enfermedades neurodegenerativas manifiestas en diversas partes del cerebro, desconociéndose los mecanismos neurales involucrados en la activación de los procesos de dicha recuperación; sin embargo, la recuperación pasiva como consecuencia de la plasticidad cerebral permite sugerir posibles mecanismos por medio del cual los procesos plásticos son puestos en marcha y de los cuales en su gran parte aún no se conocen. Es de esperar por lo tanto que la recuperación de una función en forma activa o inducida, ya sea ambientalmente o por medio de transplantes de TNE, tendrán resultados más satisfactorios que aquella acontecida en forma pasiva.

Por tal motivo, en el presente trabajo se propuso estudiar cada uno de estos tipos de recuperación para tratar de identificar algunos de los factores que facilitan u obstruyen a esta después de daño cerebral. Para tal efecto se tomaron en cuenta factores ambientales, como lo es el AE, la aplicación de transplantes de TNE en estado de suspensión, así como la recuperación pasiva en el modelo experimental de hemiplejía.

Cabe mencionar que en el presente trabajo el AE se utilizó para evaluar la recuperación pasiva, mas que como control o influenciador de la recuperación funcional por medio del ambiente.

## IX. HIPOTESIS

1. Si el ambiente estándar constituye por sí solo un modelo de recuperación pasiva, aquellos animales a los que se les induzca lesión cerebral y que no reciban transplante de tejido neural embrionario recuperarán en gran parte su funcionalidad motora.

2. En aquellos animales que tengan lesión cerebral y que reciban el transplante de tejido neural embrionario se esperará de igual modo una recuperación del daño, pero con mayor rapidez, por efectos del mismo en relación a los animales que no reciban el transplante de tejido neural embrionario.

3. No se presentará recuperación de ningún tipo en los animales experimentales.

Para comprobar las hipótesis se plantean los siguientes objetivos:

## X. OBJETIVOS

1. Identificar algunos de los efectos del ambiente estándar en la recuperación funcional expresada en términos de recuperación pasiva de la hemiplejía experimental, y de la recuperación inducida por los transplantes de tejido neural embrionario.

2. Determinar las características morfológicas y las funcionales de los transplantes de tejido neural embrionario en estado de suspensión con el fin de identificar algunos de los mecanismos por los que se puede inducir la recuperación funcional en el modelo de hemiplejía experimental.

3. Caracterizar conductual y anatómicamente dos de los principales tipos de recuperación: la pasiva y la inducida por medio del transplante de tejido neural embrionario, para identificar sus similitudes y/o diferencias.

## XI. METODOLOGIA

Se usaron 20 ratas macho de la cepa Wistar, con un peso promedio de 300 gr, ingenuas experimentalmente y una edad de tres meses, las cuales permanecieron en el bioterio de la Facultad de Psicología. Por un período de 15 días se mantuvieron en cajas múltiples y durante éste tiempo fueron sometidas a observación veterinaria, para una revisión general de su estado físico. Terminado éste período, fueron colocadas en cajas individuales estándar de bioterio (26 x 36 x 16 cm) y permanecieron así durante todo el experimento con un fotoperíodo luz-obscuridad 12/12, se les colocó aserrín esterilizado, el cual les fue cambiado cada tercer día, con comida y agua *ad libitum* hasta que los animales fueron sacrificados.

Para la medición de los efectos de las variables experimentales, se empleó una batería de pruebas: AHMR o corredor, naído, agarre o rejilla y fuerza; para el AHMR se utilizó un corredor de 150 x 12 x 16 cm, en cada extremidad del mismo se colocó una caja de 26 x 15 x 18 cm cada una con una puerta de guillotina de control manual, una de las cuales se encontraba equipada para proporcionar choques eléctricos de cuatro amperios de intensidad durante un segundo; una de las paredes del corredor es de vidrio transparente que permite la observación del recorrido de los animales, dispuesta 0.5 cm arriba del piso para colocar la tira de papel en la cual se imprimió la huella de la marcha; para la prueba de nado se usó una piscina de acrílico de 50 x 26 x 12 cm, equipada en los extremos con dos rampas, una de salida y la otra de recepción, así como una tapa (rejilla) de caja de bioterio para la prueba de agarre y, por último, un dinamómetro convencional de 500 g para la prueba de fuerza.

Durante tres días los animales se sometieron a un período de habituación al manejo experimental, que consistió en manipular y llevar a éstos, uno por uno, a los distintos aparatos que conformaron la batería de pruebas: corredor, piscina, rejilla y dinamómetro, siempre bajo las mismas condiciones: hora y turno de registro, así como de experimentador, con el previo uso de ruido blanco como fondo para enmascarar el ruido externo.

Se procedió después a el período de habituación a la secuencia de medición por dos días, con la finalidad de que los animales se habituaran y exploraran en los distintos aparatos que conformaron la batería de pruebas. La aplicación de las pruebas fue de manera alternada, cada tercer día, dispuestas de la siguiente forma:



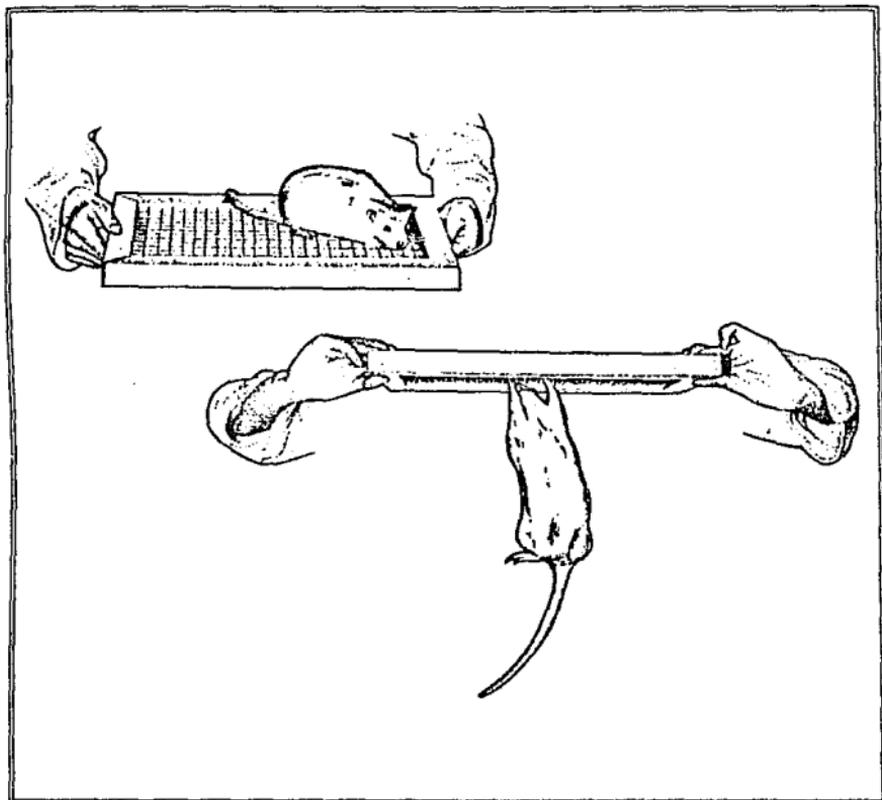


Figura 1. Esquema que representa el procedimiento que se siguió en la prueba de agarre (Realizada por el D.I Gonzalo González Piña).

#### Nado (Fig. 2).

Se colocó al animal en la rampa de salida y a los cinco segundos se quitó el seguro de sostén de la rampa, tomándose el tiempo en segundos que tardó en nadar de un extremo a otro, en seguida se tomó un segundo registro. Se mantuvo la temperatura del agua constante, aproximadamente a 37°C.

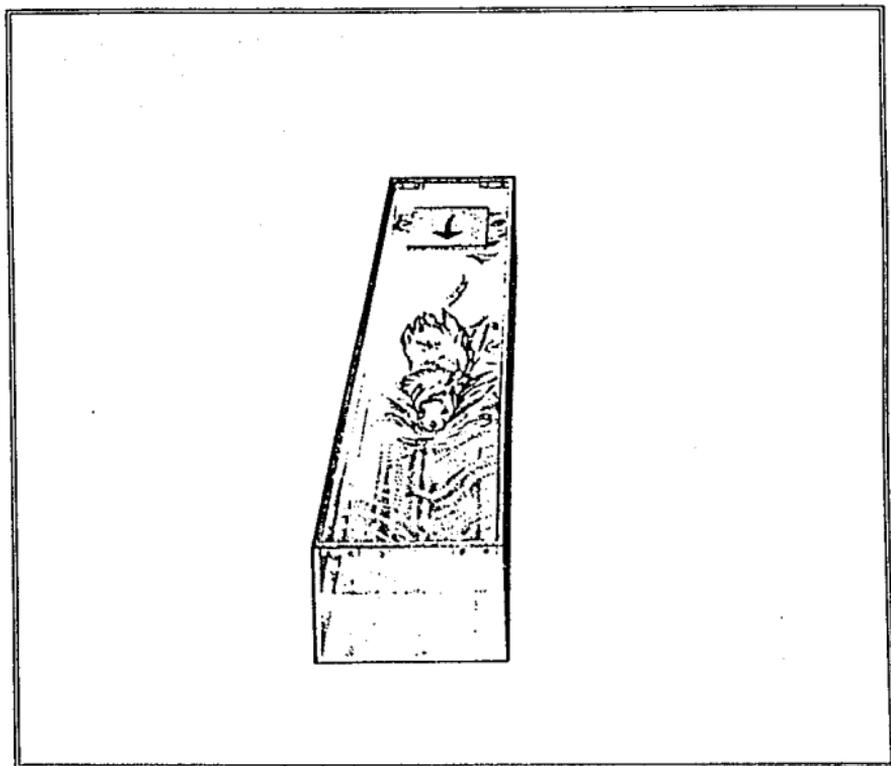


Figura 2. Esquema que representa a la prueba de natación (Realizado por el Dr. Gonzalo González Piña)

### Fuerza (Fig. 3).

Tomando de la cola al animal, se acercó al dinamómetro y en el momento en que se agarró a la palanca, se tomó la lectura de la fuerza que realizó, esto fue para las extremidades delanteras. El segundo registro midió la fuerza de las extremidades traseras, y se realizó tomando al animal de la parte media del cuerpo acercándolo al dinamómetro para que se agarrara a la palanca y realizara la fuerza al tratar de impulsarse hacia adelante.

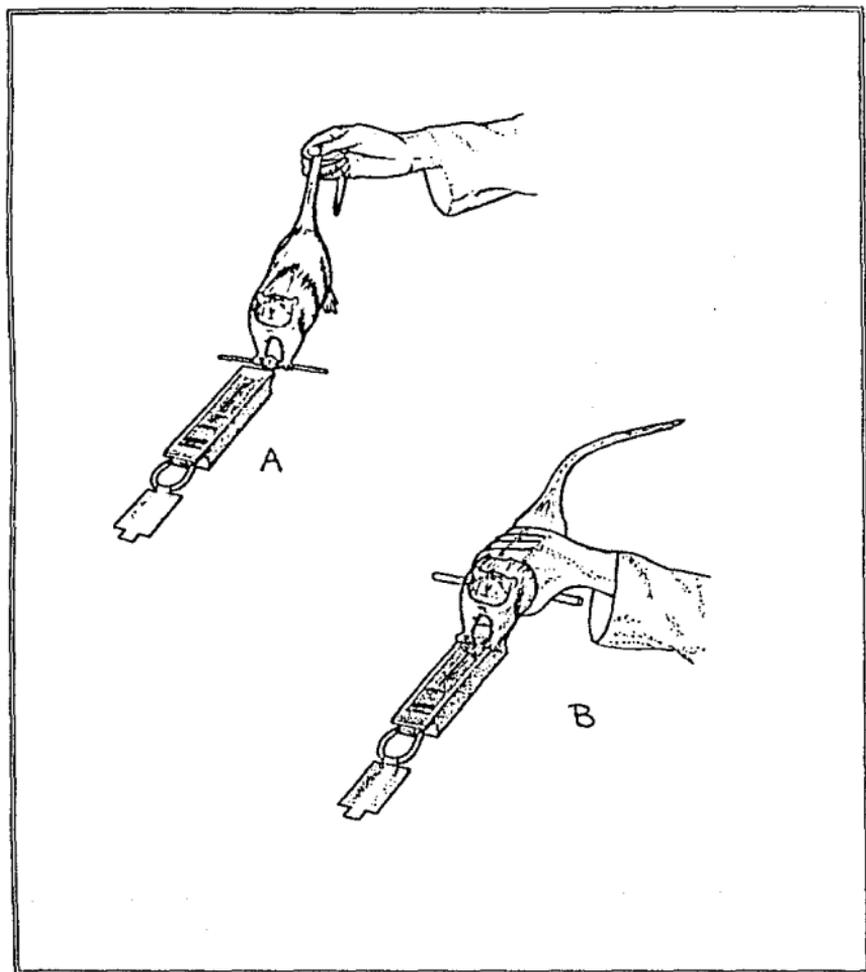


Figura 3. Esquema que representa a la prueba de fuerza. A: extremidades delanteras; B: extremidades traseras (Realizado por el D.J. Gonzalo González Piña).

AHMR (Fig. 4).

Se limpió el área de trabajo (corredor y mesa) colocándose una tira de papel dentro del corredor, en seguida cada animal fue depositado en cojines de tinta, las extremidades delanteras en tinta color azul y los extremidades traseras en tintas color verde, inmediatamente se colocó en la caja de salida con el hocico dirigido a la pared opuesta de ésta, dispuesta para esta operación al inicio del corredor, la cual se abrió a los cinco segundos, el animal pasó a lo largo del corredor entrando a la caja metc, posteriormente se colocó en su caja habitual y se realizó un segundo registro con una tira de papel nueva dentro del corredor. Se limpió con benzal cada vez que se colocó una rata distinta en los dispositivos de prueba.

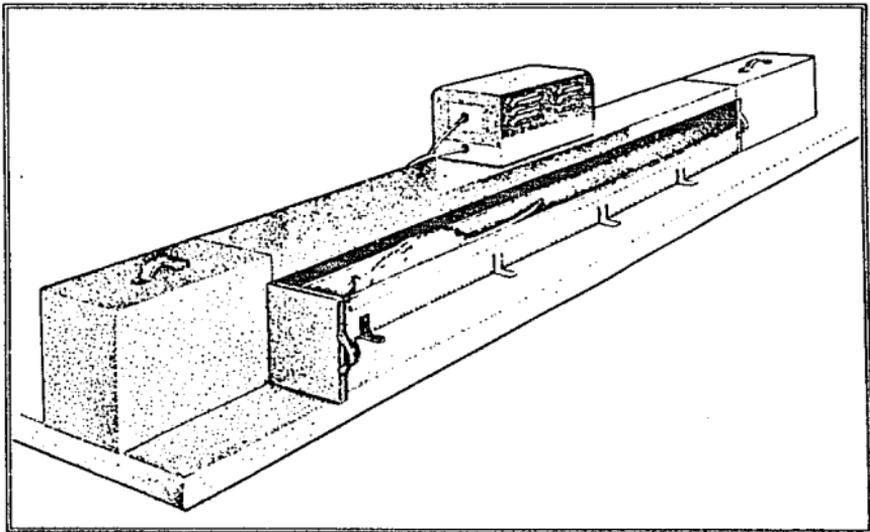


Figura 4. Esquema que representa al corredor de registro de la huella de la marcha de la rata (Realizado por el D. I. Gonzalo González Piña).

Pasado el período de LB, las ratas de los grupos lesión (LF y LV), así como de los grupos trasplante (TF y TV), se sometieron a cirugía para recibir una lesión intracraneal en la CI del hemisferio cerebral derecho. Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (60

mg/kg) vía intraperitoneal, se les rasuró la cabeza y se montaron en un aparato estereotáxico David Köpf de cuatro torres, se hizo una incisión antero-posterior en la piel de la cabeza, removiendo el periostio y exponiendo las cisuras craneanas, con un taladro dental convencional se hizo un Irépano en las siguientes coordenadas estereotáxicas (según el atlas de Pellegrino y Cushman, 1963): Antero-Posterior (A-P)= -1.0, Lateral (L)= 3.5, la duramadre se removió con una aguja de disección esterilizada. En el caso de los grupos con lesión verdadera (LV,TF y TV) con la cánula ya montada en una de las torres del estereotáxico se realizó la lesión mediante succión del tejido a una Profundidad (P)= -7.3 (Fig. 5).

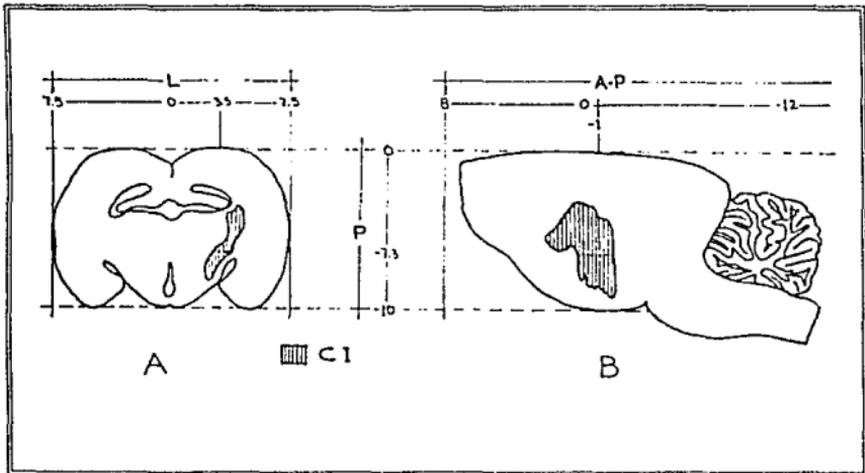


Figura 5. Esquema de localización de la zona de lesión y transplante conforme a las coordenadas estereotáxicas (Pellegrino y Cushman, 1963) en los cortes coronal (A) y sagital (B). CI= cápsula interna.

Para el grupo de LF, no se realizó la succión de tejido, simplemente se introdujo la cánula y posteriormente se retiró. En ambos casos, una vez realizada la lesión, se retiró la torre y se procedió a suturar. Finalmente los animales se trasladaron al bioterio, y después de dos días de recuperación post-operatoria, fueron sometidos a registros Post-Lesión (PL) en la batería de pruebas durante 60 días.

Después de los registros PL, los animales de los grupos transplante (TF y TV) se sometieron nuevamente a cirugía; 17 días antes de realizar el injerto, se apareó una rata

hembra. Mediante operación cesárea bajo anestesia terminal, se obtuvieron fetos de aproximadamente 17 días de gestación de una misma camada de donde se extrajo el tejido a transplantar, los fetos se colocaron y mantuvieron en solución salina estéril, se les extrajo el cerebro manualmente ayudándose con agujas de disección. Del pequeño cerebro se seccionó la corteza frontal, según el método de Fishbach (1972), en un período no mayor de 60 minutos. El tejido diseccionado se colocó en un tubo de ensayo con solución salina estéril a temperatura ambiente para después incubarse a 37°C durante 20 minutos en solución salina 0.6% D-glucosa y 0.1% de tripsina; posteriormente, se lavó el tejido en solución fisiológica mediante cuatro cambios de cuatro minutos cada uno, en seguida se disoció el tejido en solución salina glucosada pipeteando repetidamente con pipetas Pasteur pulidas al fuego. La suspensión de tejido se mantuvo a temperatura ambiente en solución salina glucosada durante el tiempo que duró la implantación, y que no excedió más de dos horas.

Siguiendo el mismo procedimiento usado en la cirugía de lesión hasta el momento de exponer las cisuras craneanas, los animales del grupo TF recibieron 10 µl de solución Ringer en el lugar lesionado mediante una microjeringa Hamilton montada en una de las torres del estereotáxico. Los animales del grupo TV se manejaron de manera similar al anterior recibiendo, en éste caso, 10 µl de tejido embrionario disociado en suspensión (el conteo celular mediante la Cámara de Neubauer o hemocitómetro, estimó la población de células embrionarias o neuritas por cada 5 µl de TNE siendo, aproximadamente, de 110,000 neuritas) durante dos fases: en la primera, a una  $P = -4.6$ , se inyectaron 5 µl de tejido en un lapso de un minuto, después de un minuto y a una  $P = -2.3$  (fase dos), se inyectaron los restantes 5 µl de tejido durante un minuto, después de dos minutos, se retiró la microjeringa. En ambos casos, se suturó a los animales y se llevaron al bioterio en donde permanecieron por un tiempo de dos días de recuperación post-operatoria, para posteriormente realizar los registros post-transplante en la batería de pruebas durante 75 días.

Aquellos animales experimentales que no recibieron una segunda cirugía (LF y LV) se dejaron evolucionar sin tratamiento alguno, salvo el continuo registro de medición (etapa de Seguimiento: S). La tabla I resume el manejo experimental para cada uno de los grupos.

**Tabla I. Manejo experimental y de condición de los animales sometidos a hemiplejía experimental.**

CONDICION GRUPO	LB	Lesión: con cánula y sin succión	Lesión: con cánula y con succión	Con trasplante	Sin trasplante
1. Lesión falsa	XX	XX			XX
2. Lesión verdadera	XX		XX		XX
3. Trasplante falso	XX		XX	XX Solución fisiológica	
4. Trasplante verdadero	XX		XX	XX Tejido embrionario	

Después de los registros PT, los animales se sacrificaron por medio de perfusión cardíaca (Skinner, 1975), para lo cual, se anestésaron con pentobarbital sódico (70 mg/kg), se realizó una incisión a través de la piel a lo largo del tado izquierdo del esternón dejando el corazón al descubierto, inmediatamente se insertó una aguja hipodérmica en la parte inferior del ventrículo izquierdo, en tanto que, en el derecho se hizo una punción a fin de drenar toda la sangre venosa y rápidamente se inyectaron 200 ml de solución salina fisiológica para expulsar la mayor parte de la sangre que se encontraba en el corazón y en el cerebro, posteriormente se inyectaron 200 ml de formol buffer neutro al 10%. En seguida, se decapitó al animal y se obtuvo el cerebro que se guardó durante ocho semanas en frascos con formol buffer neutro al 10%, finalmente se etiquetó para su identificación en el análisis histológico.

#### 1. ANALISIS DE LOS DATOS

Los registros obtenidos se clasificaron por animal y por grupo indicándose secuencialmente las sesiones. Es importante mencionar que como los registros se efectuaron cada tercer día, cada uno de estos se tomó como sesión; así para LB, el tiempo de registro fue de 45 días equivalente a 17 sesiones de registro, en PL fueron 60 días que correspondieron a 23 sesiones y en S o PT se tuvieron 29 sesiones.

Los registros del AHMR se analizaron manualmente, midiendo el largo y ancho de la zancada con una plantilla de vidrio transparente con vical graduado en centímetros y milímetros (Fig. 6). Se tomó una tira de papel en la que quedaron impresas las huellas del animal producto de su marcha, se tomaron cinco zancadas por tira para el análisis (normalmente son siete, excluyéndose la primera y la última). En el AHMR y nado se tomaron dos registros por sesión y se obtuvo el promedio de los dos registros para cada una de las pruebas y es el que se tomó en cuenta para el análisis estadístico. Posteriormente todos los datos se capturaron en una microcomputadora. Para el análisis estadístico se trabajó a nivel de grupo, es decir, se tomó el promedio de cada sesión de los animales que integraron y terminaron la experimentación en cada grupo. El AHMR se analizó por medio de un programa de ajuste polinomial (Palacios, 1987b). Para las prueba de agarre, nado y fuerza se empleó un Análisis de Varianza simple (AVs) independiente para cada grupo. Se utilizaron los siguientes análisis estadísticos por lo siguiente: con el análisis de regresión polinomial se buscó identificar los cambios de tendencia y de nivel en la variable dependiente (largo y ancho) en cada una de las etapas experimentales, para poder identificar la tendencia que representara el desplazamiento normal de los animales durante la marcha y después se tomó como índice de referencia para evaluar la recuperación y al mismo tiempo distinguirla de la lesión. Se realizaron ajustes de 1 a 10 grados tomando como criterio de selección para el reporte los resultados de aquellos ajustes significativos con  $p < 0.001$  y  $p < 0.005$ . El polinomio más significativo indicó la tendencia representativa de la distribución funcional de los datos. Con el AVs se buscó identificar las diferencias entre las distintas etapas experimentales para distinguir entre los efectos de la lesión y de la recuperación. Se empleó la prueba de Tukey (Steel y Torrie; 1989), para establecer una comparación múltiple entre medias muestrales e indicar la etapa experimental que determina las diferencias con respecto a las otras etapas. Además, se hizo una representación gráfica en el tiempo de la distribución funcional de los datos para cada una de estas pruebas: nado, agarre, fuerza delantera y fuerza trasera como medida comparativa y complementaria con el AVs y así observar cambios en las etapas experimentales y que el mismo análisis no caracterizó.

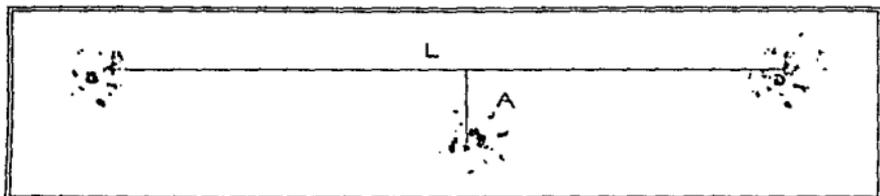


Figura 6. Análisis de la huella de la marcha de la ratita. La longitud del paso se midió entre dos zancadas consecutivas como se muestra en (L). El ancho del paso se tomó perpendicular a la medida anterior (A).

## 2. ANALISIS HISTOLOGICO

Después de las ocho semanas para la fijación de cada uno de los cerebros obtenidos, se seccionó la zona de lesión y/o trasplante aplicándosele el método de rufina para la inclusión en parafina. Se obtuvieron cortes transversales de 15  $\mu$  de grosor, montándose cinco cortes por laminilla; para su tinción se emplearon dos variantes de la técnica de Nissl: Rucker-Koithan y Cresil-Violeta, para identificar sustancia de Nissl y cromatólisis, así como la técnica de Río-Ortega para distinguir neuroglia.

Con la técnica de Nissl (Ver el apéndice, punto 7) se pretendió dar un panorama general de la lesión (en los grupos LF y LV), tal como la presencia de zonas de necrosis o cicatrización. Así como la observación de sustancia o cuerpos de Nissl en los somas de las neuronas injertadas para establecer una aproximación de la sobrevivencia del trasplante (en el grupo TV) dentro del hospedero. Por otro lado, se pretendió hacer observaciones en las zonas adyacentes a la CI para determinar la presencia de cromatólisis.

En tanto que con la técnica de Río-Ortega (Ver el apéndice, punto 7) se trató de identificar la presencia de astrocitos (gliosis) y la reactividad de la neuroglia ante la lesión.

## XI. RESULTADOS

### 1. ESTADISTICOS

Los resultados se organizaron de la siguiente manera: primero se reportan los datos correspondientes al grupo lesión falsa, después los del grupo lesión verdadera, seguidos de los del grupo trasplante falso y finalmente los del grupo trasplante verdadero. El orden de análisis fue el siguiente, y es el mismo orden en el que se reportan los datos de los grupos analizados. Primero, se reporta el AHMR iniciando con el largo del paso y después con el ancho del paso; en segundo lugar, el análisis para la prueba de agarre y después la de nado, y finalmente el análisis para la prueba de fuerza, iniciando con la fuerza para los miembros delanteros, para proseguir con la fuerza para los miembros traseros. La descripción del comportamiento de los datos registrados en el tiempo para las pruebas de agarre, nado y fuerza, se presentan gráficamente en el Apéndice (punto 7).

#### Grupo Lesión Falsa (LF).

##### Prueba AHMR:

En la figura 7.1 se observa el comportamiento para el largo del paso en el grupo LF. En LB el ajuste de los datos se realizó con un polinomio de 3° indicando una forma de registro de tipo senoide con alternación de períodos, aproximadamente cada 10 sesiones de registro, observándose dos tipos de zancada: la corta que se presenta por debajo del trazo del polinomio y la larga por arriba de este. En la etapa de PL se observa un comportamiento similar al anterior con un ajuste polinomial de 4°, sólo que en este caso el rango de las frecuencias del largo de la zancada se amplió. De hecho, mientras las frecuencias registradas en LB se encontraban entre los 14 y 17 cm, en el caso de PL el rango aumentó de 15 a 18 cm, volviendo al rango de 14 a 17 cm en la etapa de S. En esta última, el ajuste de los datos fue con un polinomio de 2°, con un comportamiento de tendencia a la línea recta, mas que al senoide. En las tres etapas el ajuste fue significativo a  $p < 0.01$ .

En la figura 7.2, se muestra el comportamiento para el ancho del paso en el grupo LF. A excepción de LB, en el que el comportamiento fue de tipo senoide y con un ajuste polinomial de 3°, en PL y S la tendencia fue rectilínea, con un ajuste de polinomio de 2°; en las tres etapas con un rango de frecuencias de 3 a 3.5 cm. En LB y PL el ajuste polinomial fue significativo a  $p < 0.01$ .

**Prueba de agarre:**

La figura 7.3,a muestra las medidas obtenidas para este grupo. Se indican diferencias significativas ( $F_{(12, 34)} = 44.37, p < 0.05$ ) de los registros LB (8.16 s) con respecto a los obtenidos después de la lesión (3.66 s) y S (3.41 s), no encontrándose entre estos dos últimos.

Después de haber ocasionado la lesión, disminuye significativamente el tiempo de agarre con respecto a los de LB, pero luego tienden a incrementarse los registros en S hasta que se estabilizan no llegando a los niveles basales (Apéndice, punto 7).

**Prueba de nado:**

Diferencias significativas ( $F_{(12, 34)} = 6.79, p < 0.05$ ) son mostradas por los registros PL (1.45 s) y S (1.48 s) con respecto a los basales (1.25 s), figura 7.3,b.

Se muestra en los registros de la etapa PL un incremento en el tiempo de nado el cual desaparece después de la séptima sesión manteniendo un registro estable hasta el final de la etapa. Los registros de S indican un pequeño decremento en los valores con respecto a los de PL mostrando una tendencia a la estabilidad (Apéndice, punto 7).

**Prueba de fuerza.**

**Extremidades delanteras:**

Hay diferencias significativas ( $F_{(12, 34)} = 21.23, p < 0.05$ ) de los registros PL (129.84 g) con respecto a los de LB (99.04 g) y S (94.21 s) entre los cuales no hay diferencias significativas (Fig. 7.3,c).

En la etapa PL se hace notar con un incremento en la fuerza. Los registros de la fuerza realizada vuelven a los niveles basales y se mantienen hasta el final del S (Apéndice, punto 7).

**Extremidades traseras:**

Los registros de LB (127.43 g) no muestran diferencias significativas con respecto a los registros obtenidos después de la lesión (131.25 g) y los de S (116.23 g), pero sí se presentan entre los dos últimos ( $F_{(12, 34)} = 3.87, p < 0.05$ ), figura 7.3,d.

Hasta la sesión 15 se presenta un incremento en la fuerza realizada y que luego tiende a los niveles basales en las sesiones finales de la etapa. Se muestran los registros del S los cuales casi se mantienen constantes y muy cercanos a los basales (Apéndice, punto 7).

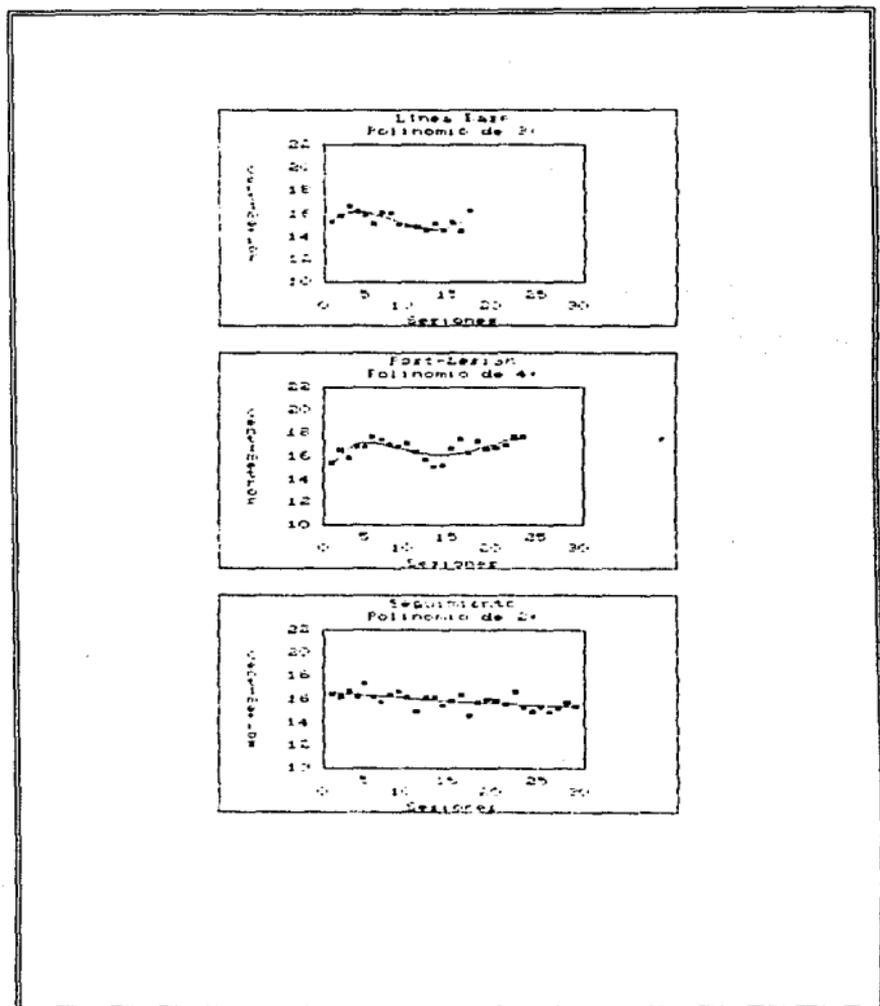


Figura 7.1 Muestra la comparación del análisis polinomial para el largo del paso en el grupo lesión falsa durante las tres etapas experimentales. El grado polinomial indica el ajuste de los datos.

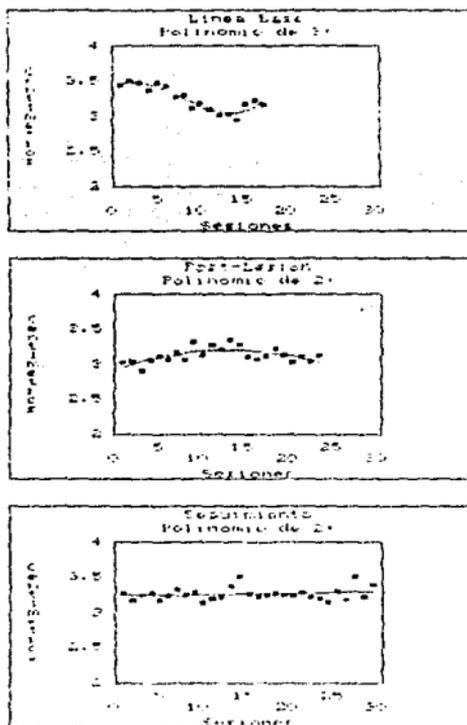


Figura 7.2 Muestra la comparación del análisis polinomial para el ancho del paso en el grupo lesión falsa durante las tres etapas experimentales. El grado polinomial indica el ajuste de los datos.

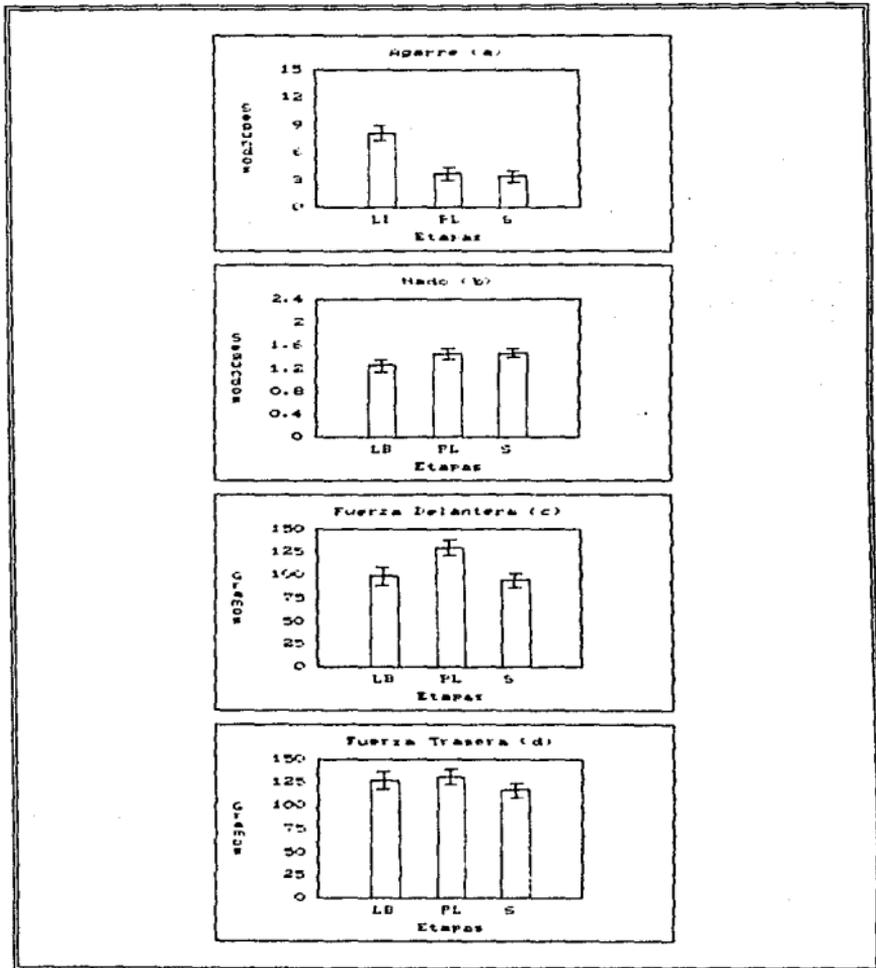


Figura 7.3. Comparación de medias; las barras indican el valor promedio y las líneas verticales dos veces el error estándar. En a), b), c) y d) se muestran los resultados de los registros obtenidos durante las tres etapas experimentales en el grupo lesión falsa para la prueba de agarre, nado y fuerza de las extremidades delanteras y traseras, respectivamente.

**Grupo Lesión Verdadera (LV).**

**Prueba de AHMR:**

En el grupo LV, la LB (Fig. 7.4), tiene un comportamiento de tipo semisinusoidal y un ajuste de polinomio de 3°, significativo a  $p < 0.01$ . Para la etapa de PL, el ajuste del polinomio fue de 4° y con tendencia sinusoidal, incrementándose ligeramente el rango de frecuencias del largo del paso, de entre 15 y 18 cm (LB) a 16 y 19 cm (PL), manteniéndose en este último rango en la etapa de S durante las 10 primeras sesiones y con una tendencia rectilínea en forma decreciente hasta mantenerse en un rango de 14 a 16 cm en las últimas 20 sesiones de registro, el ajuste de los datos se hizo con un polinomio de 2°, significativo para este caso a  $p < 0.01$ .

Para el ancho se tiene el siguiente comportamiento: en las tres etapas de registro (LB, PL y S), la tendencia es de tipo rectilínea, con un rango de frecuencia de 2.8 a 3.5, y un ajuste polinomial de 2° (Fig. 7.5).

**Prueba de agarre:**

El AVs destaca diferencias significativas ( $F_{(3,34)} = 14.47, p < 0.05$ ) de los datos de LB (6.42 s) en comparación con los registros PL (4.27 s) y los registros de S (4.74 s) los cuales no difieren significativamente entre sí (Fig. 7.6,a).

Los efectos provocados por la lesión se manifiestan en las primeras sesiones de registro durante la etapa PL, en donde hay registros de 2 segundos, los cuales se incrementan gradualmente hasta llegar a niveles muy cercanos a los basales aproximadamente después de la sesión 10, manteniendo una estabilidad hasta el final de los registros en la etapa. Durante el S continúa la estabilidad presentada en PL destacando los registros de las últimas seis sesiones que tienen valores muy cercanos a los que se obtuvieron en LB (Apéndice, punto 7).

**Prueba de nado:**

Los registros de LB (1.65 s) no muestran diferencias significativas con respecto a los de PL (1.63 s) y a los del S (1.81 s), pero estos dos últimos sí la muestran ( $F_{(3,34)} = 3.47, p < 0.05$ ), figura 7.6,b.

Puede observarse un ligero incremento en el tiempo de nado, pero ya al final de la etapa de registro PL, se da el decremento en el tiempo. Durante los registros de S se presenta un ligero incremento en el tiempo de nado que no es significativo si se compara con los registros de LB (Apéndice, punto 7).

**Prueba de fuerza.**

**Extremidades delanteras:**

Se presentan diferencias significativas ( $F_{(3, 36)} = 13.32, p < 0.05$ ) de los registros PL (112.75 g) en comparación con los registros de LB (93.65 g) y los de S (94.72 g), no mostrándose entre estos dos últimos (Fig. 7.6,c).

El incremento de la fuerza se advierte en los registros PL manteniendo una estabilidad hasta el final de la etapa. Se muestran desde el inicio de la etapa de S valores muy cercanos a los basales durante toda la etapa experimental (Apéndice, punto 7).

**Extremidades traseras:**

El AVs no muestra diferencias significativas de los registros tomados durante LB (125.63 g) al compararlos con los registros PL (131.51 g) y S (116.67 g), pero estos dos últimos si las presentan ( $F_{(3, 36)} = 4.79, p < 0.05$ ), figura 7.6,d.

Se manifiesta un aumento de los valores en los registros PL si se comparan con los de LB, esos valores se mantienen dentro de un rango hasta el final de la etapa. Por último, los registros tomados en la etapa de S indican que los valores de los registros vuelven a ser muy parecidos a los basales y además se mantienen con poca variación (Apéndice, punto 7).

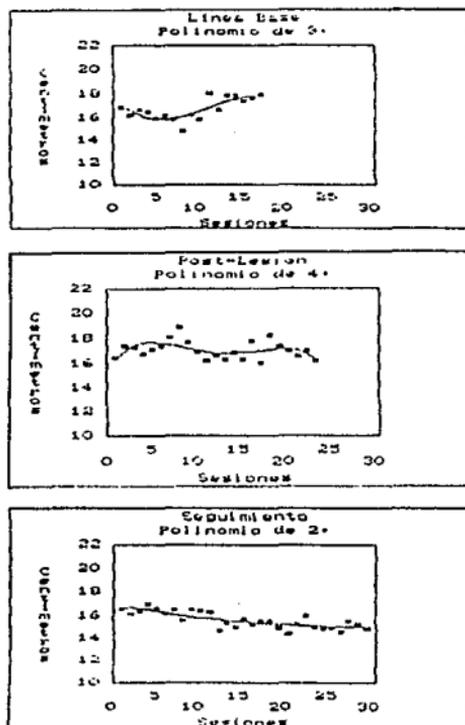


Figura 7.4 Muestra la comparación del análisis polinomial para el largo del paso en el grupo lesión verdadera durante las tres etapas experimentales. El grado polinomial indica el ajuste de los datos.

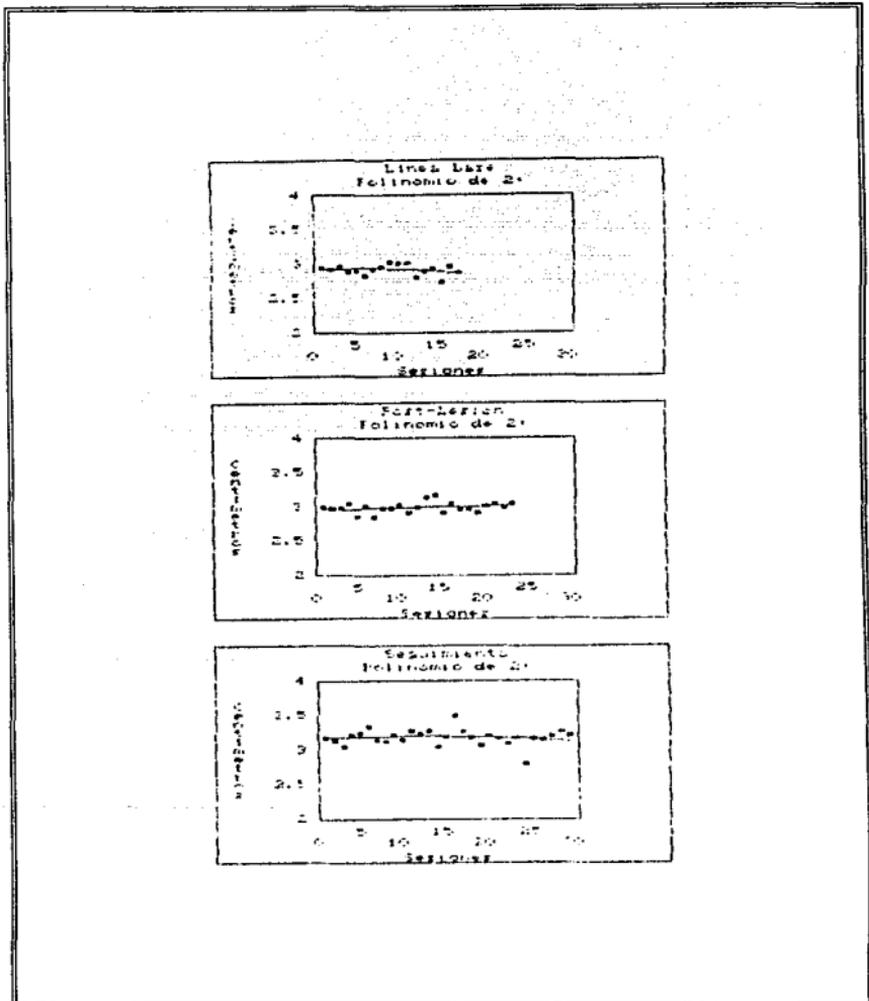


Figura 7.5 Muestra la comparación del análisis polinomial para el ancho del paso en el grupo lesión verdadera durante las tres etapas experimentales. El grado polinomial indica el ajuste de los datos.

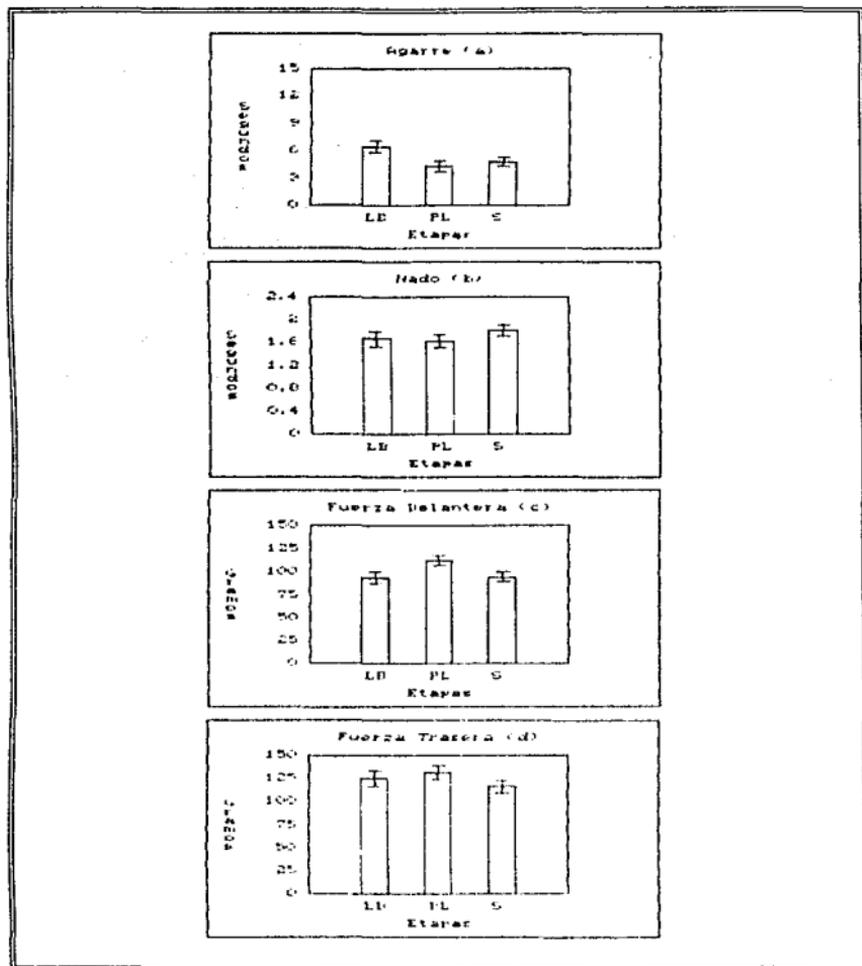


Figura 7.6. Comparación de medias; las barras indican el valor promedio y las líneas verticales dos veces el error estándar. En a), b), c) y d) se muestran los resultados de los registros obtenidos durante las tres etapas experimentales en el grupo lesión verdadera para la prueba de agarre, nado y fuerza de las extremidades delanteras y traseras, respectivamente.

**Grupo Transplante Falso (TF).****Prueba de AHMR:**

En la figura 7.7 se muestra el comportamiento del largo del paso para el grupo TF. En LB el ajuste de los datos se realizó con un polinomio de 3°, con un comportamiento de tipo semisinusoide. El rango de frecuencias fue de 16 a 18 cm conservándose durante las primeras 15 sesiones de la etapa PL, después del cual, este tiende a disminuir en las últimas sesiones en un rango de 14.5 a 15.5 cm. El ajuste de los datos fue con un polinomio de 2° con una tendencia rectilínea en forma decreciente y significativo a  $p < 0.01$ . En la etapa de PT se observa un comportamiento de tendencia rectilínea, con un ajuste significativo a  $p < 0.01$  de regresión polinomial de 2° y un rango de frecuencia de 13 a 16 cm.

En cuanto al ancho, en la figura 7.8 se puede observar el comportamiento semisinusoide de éste en la etapa de LB, con un ajuste polinomial de 2°, en tanto que en PL la tendencia es rectilínea con un ajuste polinomial de 2° y finalmente para PT la tendencia es sinusoide con un ajuste de 4°. En las dos primeras etapas el ajuste polinomial fue significativo a  $p < 0.01$ , en tanto que en PT fue a  $p < 0.05$ . En las tres etapas el rango de frecuencias fue de 2 a 3 cm.

**Prueba de agarre:**

Existen diferencias significativas ( $F_{(13, 34)} = 20.89$ ,  $p < 0.05$ ) de los registros LB (13.37 s) en comparación con los obtenidos en PL (8.18 s) y los de PT (6.82 s) que entre si no las muestran (Fig. 7.9,a).

El decremento de los valores se manifiesta después de realizar la lesión cerebral. Los registros disminuyen aún más durante la etapa PT debido a la segunda cirugía para realizar el injerto falso, pero se muestra que a partir de la sesión 20 se manifiesta un incremento en los valores de los registros y, aunque no llegan a los niveles basales, si se alcanzan los obtenidos en la etapa anterior (Apéndice, punto 7).

**Prueba de nado:**

El AVs no muestra diferencias significativas entre las tres etapas experimentales. LB (1.49 s), PL (1.46 s) y PT (1.62) con una  $F_{(13, 34)} = 2.21$ ,  $p < 0.05$  (Fig. 7.9,b).

Por otro lado, se observa un incremento gradual en el tiempo de nado, el cual después de 10 sesiones, se estabiliza hasta el final de la etapa. Después de realizada la segunda cirugía, se vuelven a mostrar los efectos negativos debidos a una nueva lesión en la misma zona, el tiempo de nado se mantiene en los niveles anteriores no mostrando indicios de registrar con tendencia a los niveles basales (Apéndice, punto 7).

**Prueba de fuerza.**

**Extremidades delanteras:**

Nuevamente, después del AVs, se presentan diferencias significativas ( $F_{(3,36)} = 16.90$ ,  $p < 0.05$ ) por parte de los registros PL (123.95 g) al compararlos con los obtenidos en LB (97.72 g) y en PT (106.33 g) como lo muestra la figura 7.9,c. Entre los registros de LB y PT no se presentaron diferencias significativas.

Después de la LB, el análisis de los registros PL indicó un incremento en la fuerza el cual se mantuvo durante la etapa. Es hasta la etapa PT, que se advierte un decremento debido a que se registran valores que tienden a los obtenidos en LB (Apéndice, punto 7).

**Extremidades traseras:**

Al igual que en las extremidades delanteras, se observan diferencias significativas ( $F_{(3,36)} = 7.61$ ,  $p < 0.05$ ) de los registros PL (132.77 g) y la etapas restantes (LB= 113.51 g y PT= 119.67 g) entre las cuales no existen esas diferencias (Fig. 7.9,d).

El incremento de los valores en la etapa PL que, después de 18 sesiones, indica una disminución de los mismos con tendencia al registro basal, los que se mantienen con poca variación y tendencia lineal en la etapa PT (Apéndice, punto 7).

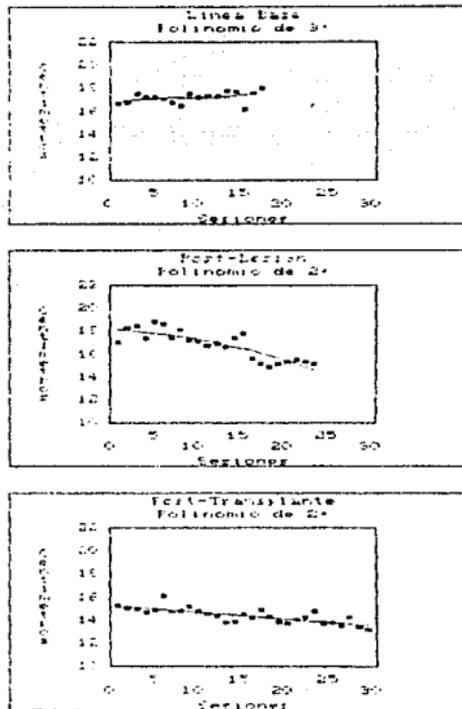


Figura 7.7 Muestra la comparación del análisis polinomial para el largo del paso en el grupo trasplante falso durante las tres etapas experimentales. El grado polinomial indica el ajuste de los datos.

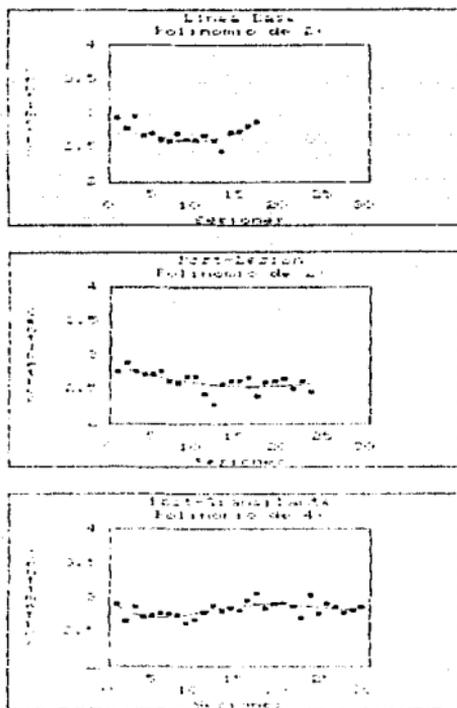


Figura 7.8 Muestra la comparación del análisis polinomial para el ancho del paso en el grupo trasplante falso durante las tres etapas experimentales. El grado polinomial indica el ajuste de los datos.

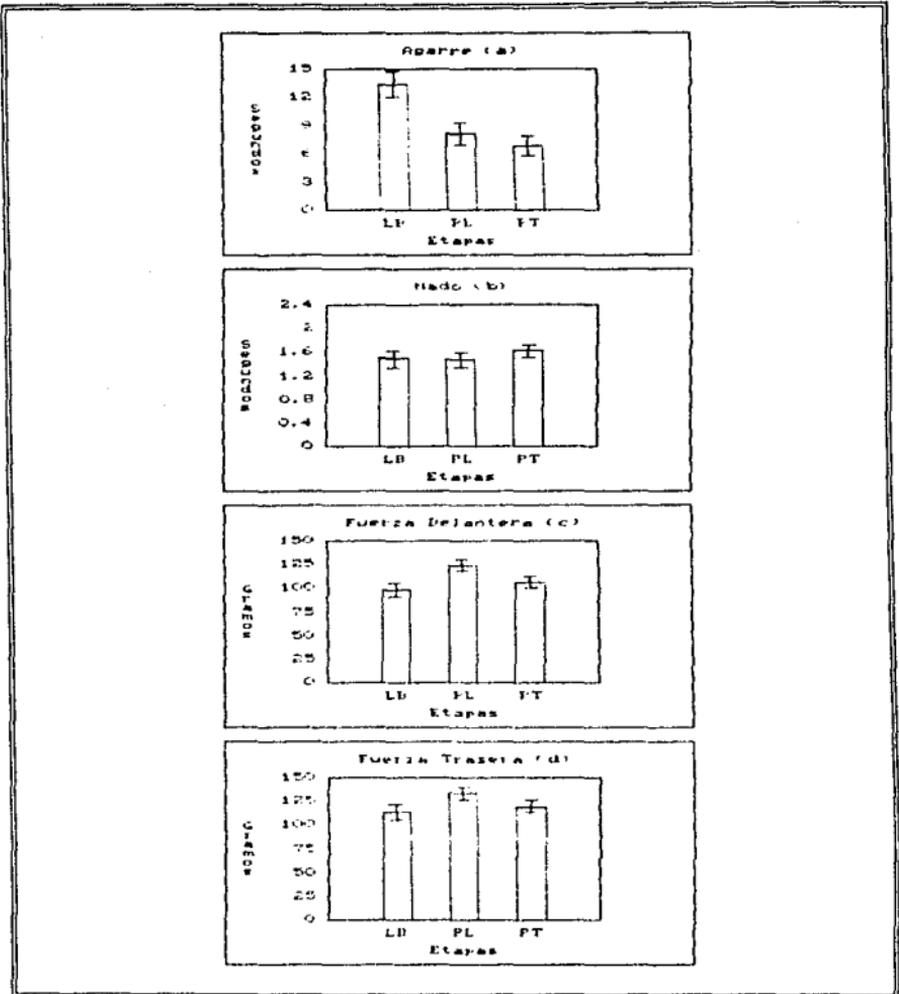


Figura 7.9. Comparación de medias, las barras indican el valor promedio y las líneas verticales dos veces el error estándar. En a), b), c) y d) se muestran los resultados de los registros obtenidos durante las tres etapas experimentales en el grupo trasplante falso para la prueba de agarre, nadar y fuerza de las extremidades delanteras y traseras, respectivamente.

**Grupo Trasplante Verdadero (TV).**

**Prueba de AHMR:**

Se observa el siguiente comportamiento para el largo del paso: en etapa de LB (Fig. 7.10) la tendencia es semisinusoidal, al igual que en los grupos anteriores, con alternancia de periodos cada 10 sesiones, y observación de zancadas cortas y largas; en tanto que en PL la tendencia es rectilínea, en ambos casos en un rango de frecuencias de 16.5 a 20.5 cm. Para la etapa de PT, la tendencia es rectilínea con un rango de frecuencias de 14 a 17.5 cm. El ajuste de los datos fue con un polinomio de 3° para la etapa LB y de 2° para PL y PT, siendo únicamente significativo en la etapa de PT a  $p < 0.01$ .

Para el ancho del paso, en la etapa de LB (Fig. 7.11) con un ajuste polinomial de 2° y significativo a  $p < 0.01$ , se muestra una tendencia rectilínea, mientras que en PL la tendencia es sinusoidal con un ajuste polinomial de 3° y por último, en la etapa de PT la tendencia vuelve a ser sinusoidal, con un polinomio de 5°. En las dos últimas etapas el ajuste fue significativo a  $p < 0.05$ .

**Prueba de agarre:**

Situación similar al de los grupos anteriores se presenta también en este grupo. Las diferencias significativas ( $F_{(3,36)} = 41.22, p < 0.05$ ) se dan en los registros LB (4.28 s) en comparación a los registros de las etapas posteriores en donde los de PL (1.94 s) y los de PT (2.14 s) no mostraron diferencias significativas como se muestra en la figura 7.12.a.

Durante el seguimiento en el tiempo es evidente, que después de la lesión, el tiempo de agarre disminuye en relación a los registros basales tomando valores que no varían mucho y que se mantienen durante toda la etapa. En seguida, durante los registros PT, se advierte el efecto ocasionado por la segunda cirugía en donde se hizo el injerto de TNE, aunque los datos no varían mucho. El efecto está indicado, inicialmente, por un decremento de los valores en las primeras sesiones de registro y, posteriormente, por un pequeño incremento rápido de los valores después de la séptima sesión los cuales se mantienen; al final de las sesiones se advierte una ligera tendencia a registrar valores muy cercanos a los basales, aunque son significativamente diferentes (Apéndice, punto 7).

**Prueba de nado:**

Entre los registros de LB (1.45 s), PL (1.40 s) y PT (1.54 s) no existen diferencias significativas ( $F_{(3,36)} = 1.45, p < 0.05$ ) como lo muestra la figura 7.12.b.

Un ligero incremento de los valores de registro puede advertirse y que en las últimas sesiones de registro de la etapa tienden a disminuir. Después de la segunda cirugía, en

donde se realizó el trasplante de TNE, se vuelve a presentar un aumento en el tiempo de nado que posteriormente, en pocas sesiones de registro, disminuye y se estabiliza (Apéndice, punto 7).

**Prueba de fuerza.**

**Extremidades delanteras:**

Este grupo muestra un comportamiento muy particular en esta prueba, los registros LB (104.71 g) y PL (105.99 g) no varían significativamente, mientras que los registros PT (84.04 g) si las muestran con cualquiera de las dos etapas anteriores ( $F_{(3, 34)} = 11.08$ ,  $p < 0.05$ ) como se representa en la figura 7.12.c.

Al principio de los registros se presenta un ligero cambio en la fuerza el cual se manifiesta con una mayor dispersión de los puntos, indicando de alguna u otra manera, que se indujo una pequeña alteración al lesionar a los animales. Durante la etapa PT se evidencia el efecto producido por la cirugía de trasplante de las células embrionarias. En un principio, los registros disminuyen de valor, y pocas sesiones después, muestran una ligera tendencia a aumentar, pero no llegan a los registros basales (Apéndice, punto 7).

**Extremidades traseras:**

La figura 7.12.d muestra el resultado del AVs para esta variable. Las diferencias significativas ( $F_{(3, 34)} = 3.72$ ,  $p < 0.05$ ) están dadas entre los registros PL (125.67 g) y los de PT (111.01 g), mientras que los obtenidos en LB (118.28 g) no difieren con alguno de ellos.

En PL se manifiesta un incremento de los valores en las sesiones de registro donde posteriormente, casi al final de la etapa, disminuyen sus valores y registran cerca a los basales. Para este grupo, los registros de PL, en las primeras sesiones, disminuyen aún más por el efecto de la cirugía de trasplante; en seguida, durante la etapa PT, los animales recuperan gradualmente su fuerza, registrando valores muy cercanos a los de LB (Apéndice, punto 7).

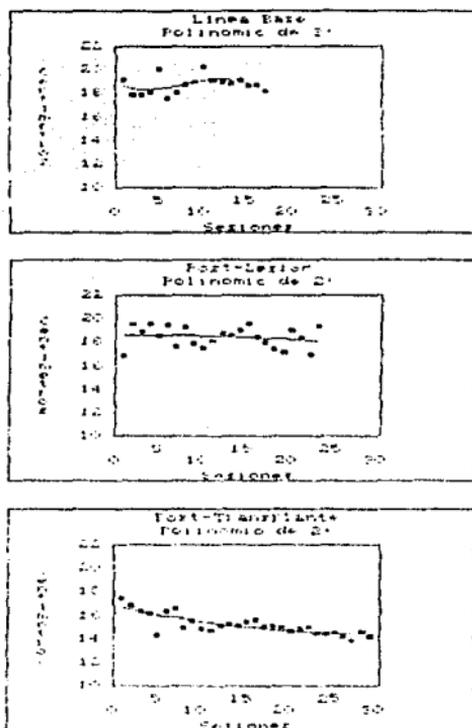


Figura 7.10 Muestra la comparación del análisis polinomial para el largo del paso en el grupo trasplante verdadero durante las tres etapas experimentales. El grado polinomial indica el ajuste de los datos.

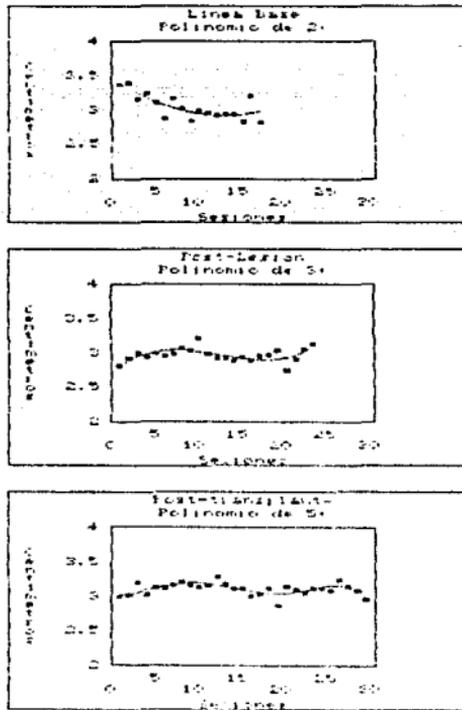


Figura 7.11 Muestra la comparación del análisis polinomial para el ancho del paso en el grupo transplante verdadero durante las tres etapas experimentales. El grado polinomial indica el ajuste de los datos.

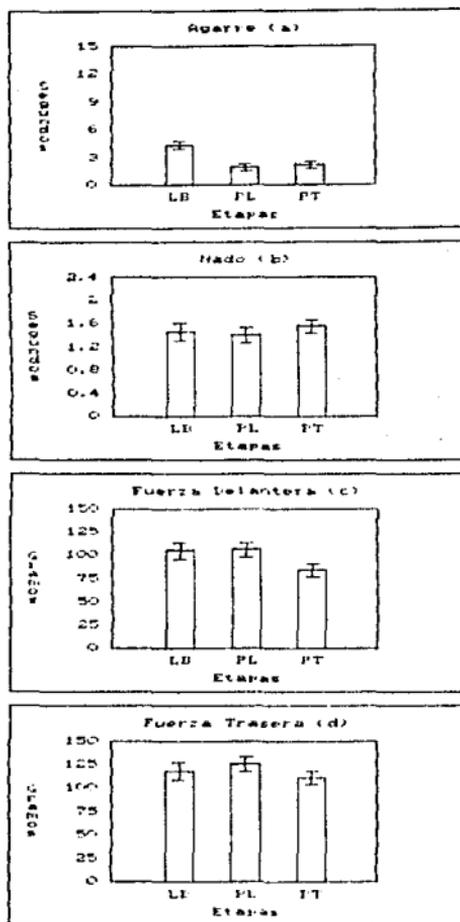


Figura 7.12. Comparación de medias; las barras indican el valor promedio y las líneas verticales dos veces el error estándar. En a), b), c) y d) se muestran los resultados de los registros obtenidos durante las tres etapas experimentales en el grupo trasplante verdadero para la prueba de agarre, nado y fuerza de las extremidades delanteras y traseras, respectivamente.

Tabla II. Resumen de los resultados para el AHMR obtenidos a partir de ajustes polinomiales en los cuatro grupos experimentales durante las tres etapas de registro.

PRUEBA :		A H M R				
GRUPO	Medida del paso	Etapas	Promedio (cm)	Desv. Estándar	F <sub>0.05(0.1)</sub>	Grado del Polinomio
LESION FALSA	Largo	LB	15.42	0.66	7.56	3
		PL	16.68	0.76	4.60	4
		S	15.89	0.63	8.02	2
	Ancho	LB	3.25	0.17	31.44	3
		PL	3.12	0.10	7.99	2
		S	3.26	0.09	0.89	2
LESION VERDADERA	Largo	LB	16.72	0.94	7.57	3
		PL	17.08	0.73	1.61	4
		S	15.60	0.70	18.95	2
	Ancho	LB	2.91	0.07	0.47	2
		PL	2.98	0.07	0.37	2
		S	3.17	0.11	0.40	2
TRANSPLANTE FALSO	Largo	LB	17.20	0.47	0.98	3
		PL	16.79	1.25	27.24	3
		PT	14.39	0.63	19.07	2
	Ancho	LB	2.71	0.13	13.84	2
		PL	2.62	0.13	7.51	2
		PT	2.82	0.10	3.66	4
TRANSPLANTE VERDADERO	Largo	LB	18.72	0.72	1.55	3
		PL	18.44	0.87	0.35	2
		PT	15.22	0.85	22.72	2
	Ancho	LB	3.05	0.18	12.30	2
		PL	2.97	0.09	4.49	3
		PT	3.10	0.09	3.91	5

\* No Significativo.

\*\*  $p < 0.05$

Tabla III. Resumen los resultados para las prueba de agarre, nado y fuerza obtenidos con un AVs simple en los cuatro grupos experimentales durante las tres etapas de registro.

GRUPO	PRUEBA	Etapas	Promedio $\pm$ 2 E.E.	F <sub>10-0.05</sub>
LESION FALSA	Agarre	LB	8.16 $\pm$ 0.64	44.36
		PL	3.66 $\pm$ 0.72	
		S	3.41 $\pm$ 0.64	
	Nado	LB	1.25 $\pm$ 0.10	6.79
		PL	1.45 $\pm$ 0.08	
		S	1.48 $\pm$ 0.08	
	Fuerza Delantera	LB	99.04 $\pm$ 9.92	21.23
		PL	129.84 $\pm$ 8.54	
		S	94.21 $\pm$ 7.60	
Fuerza Trasera	LB	127.43 $\pm$ 9.76	3.87	
	PL	131.25 $\pm$ 8.40		
	S	116.27 $\pm$ 7.48		
LESION VERDADERA	Agarre	LB	6.42 $\pm$ 0.62	14.47
		PL	4.27 $\pm$ 0.54	
		S	4.74 $\pm$ 0.48	
	Nado	LB	1.65 $\pm$ 0.12	3.47
		PL	1.63 $\pm$ 0.10	
		S	1.81 $\pm$ 0.10	
	Fuerza Delantera	LB	93.65 $\pm$ 6.78	13.32
		PL	112.75 $\pm$ 5.82	
		S	94.72 $\pm$ 5.18	
Fuerza Trasera	LB	125.13 $\pm$ 8.38	4.79	
	PL	131.51 $\pm$ 7.20		
	S	116.67 $\pm$ 6.42		

\* Los valores promedio para las pruebas de agarre y nado están dados en segundos (s)  $\pm$  2 veces el Error Estándar (2 E.E.). En el caso de la prueba de fuerza, las unidades están dadas en gramos (g)  $\pm$  2 E.E.

\*\* Valor No Significativo ( $F < 3.38$ ).

Tabla III. Continuación ...

GRUPO	PRUEBA	Etapa	Promedio $\pm$ 2 E.E.	F <sub>0.05</sub>
TRANSPLANTE  FALSO	Agarre	LB	13.37 $\pm$ 1.64	20.89
		PL	8.18 $\pm$ 1.40	
		PT	6.82 $\pm$ 1.24	
	Nado	LB	1.49 $\pm$ 0.12	2.21**
		PL	1.46 $\pm$ 0.10	
		PT	1.62 $\pm$ 0.10	
	Fuerza Delantera	LB	97.72 $\pm$ 7.18	16.90
		PL	123.95 $\pm$ 6.18	
		PT	106.33 $\pm$ 5.50	
	Fuerza Trasera	LB	113.50 $\pm$ 7.88	7.61
		PL	132.77 $\pm$ 6.78	
		PT	119.67 $\pm$ 6.04	
TRANSPLANTE  VERDADERO	Agarre	LB	4.28 $\pm$ 0.42	41.22
		PL	1.94 $\pm$ 0.36	
		PT	2.14 $\pm$ 0.32	
	Nado	LB	1.45 $\pm$ 0.14	1.45**
		PL	1.40 $\pm$ 0.12	
		PT	1.54 $\pm$ 0.10	
	Fuerza Delantera	LB	104.71 $\pm$ 9.04	11.08
		PL	105.99 $\pm$ 7.78	
		PT	84.04 $\pm$ 6.92	
	Fuerza Trasera	LB	118.28 $\pm$ 9.34	3.72
		PL	125.67 $\pm$ 8.04	
		PT	111.01 $\pm$ 7.16	

\* Los valores promedio para las pruebas de agarre y nado están dados en segundos (s)  $\pm$  2 veces el Error Estándar (2 E.E.). En el caso de la prueba de fuerza, las unidades están dadas en gramos (g)  $\pm$  2 E.E.

\*\* Valor No Significativo ( $F < 3.38$ ).

## 2. HISTOLOGICOS

El análisis histológico en el grupo LF indicó que la lesión provocada por la introducción de la cánula dejó un trazo o marcaje a partir del hipocampo hasta la zona baja de CI (A-P= -1; L = 3.5; P =-7.0), no observándose áreas dañadas adyacentes. Este trazo se caracterizó por la presencia de astrocitos, la de los macrófagos puede descartarse, ya que la reactividad fue baja (Fig. 8).

En el grupo LV se observó también el trazo o marcaje provocado por la introducción de la cánula (Fig. 9,A), sólo que en este caso, únicamente se observó en la zona de CI (A-P= -1; L = 3.5; P =-6.5), la escasa presencia de macrófagos es evidente predominando los astrocitos (Fig. 9,B), aunque en comparación con el grupo anterior en menor cantidad, al igual que los fibrocitos y oligodendrocitos. Un aspecto importante es la presencia de vascularización. Otras áreas dañadas fueron la corteza, el hipocampo y el tálamo. La lesión en la corteza, se caracterizó por la abundancia de macrófagos, y por la presencia de astrocitos y fibrocitos. En cuanto al hipocampo y tálamo, la lesión fue consecuencia de edema cerebral observado a nivel de corteza, en cuyo caso se caracterizó por la presencia de astrocitos y en menor cantidad oligodendrocitos, pérdida celular en la región del hipocampo, así como detritos en la zona del tálamo y una expansión del ventrículo derecho.

En el grupo TF, se observó claramente la trayectoria que siguió la cánula (Fig. 10,A), desde la corteza hasta la CI (A-P= -1; L= 3.5; P= -5.0) caracterizándose por la presencia de astrocitos (como en los grupos anteriores) con vascularización del área de la CI, poca reactividad de la oligodendrogliá, abundancia de macrófagos y necrosis celular (Fig. 10,B). En relación a la lesión observada en la corteza, esta se caracterizó por la presencia de fibrocitos, astrocitos y oligodendrocitos; la escasa presencia de macrófagos fue notoria.

En el grupo TV se observó, como producto del edema cerebral, una extensa pérdida celular en la corteza, además de otras áreas dañadas tales como el hipocampo y algunos núcleos del tálamo; aunque es una zona considerablemente dañada, los macrófagos únicamente fueron abundantes en la corteza y en el hipocampo. En general, la zona se caracterizó por la abundante presencia de astrocitos. El área transplantada (A-P= -1; L= 3.0; P= -5.0) se caracterizó por la acumulación de residuos y material en degeneración, así como la ausencia de células sobrevivientes y una reactividad alta por parte de los astrocitos (Fig. 11).

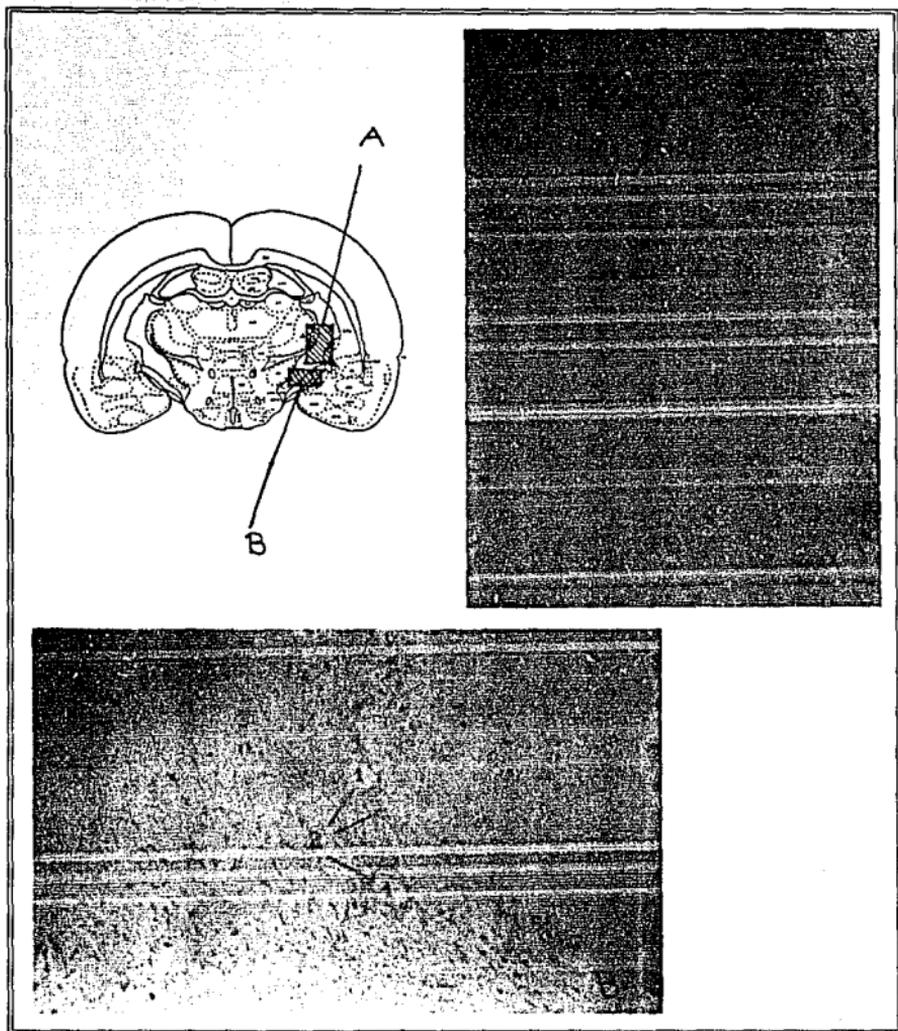


Figura 8. Cortes histológicos de tejido cerebral lesionado. Lesión falsa. A: 100x; B: 100x. 1. vascularización; 2. astrocitos.

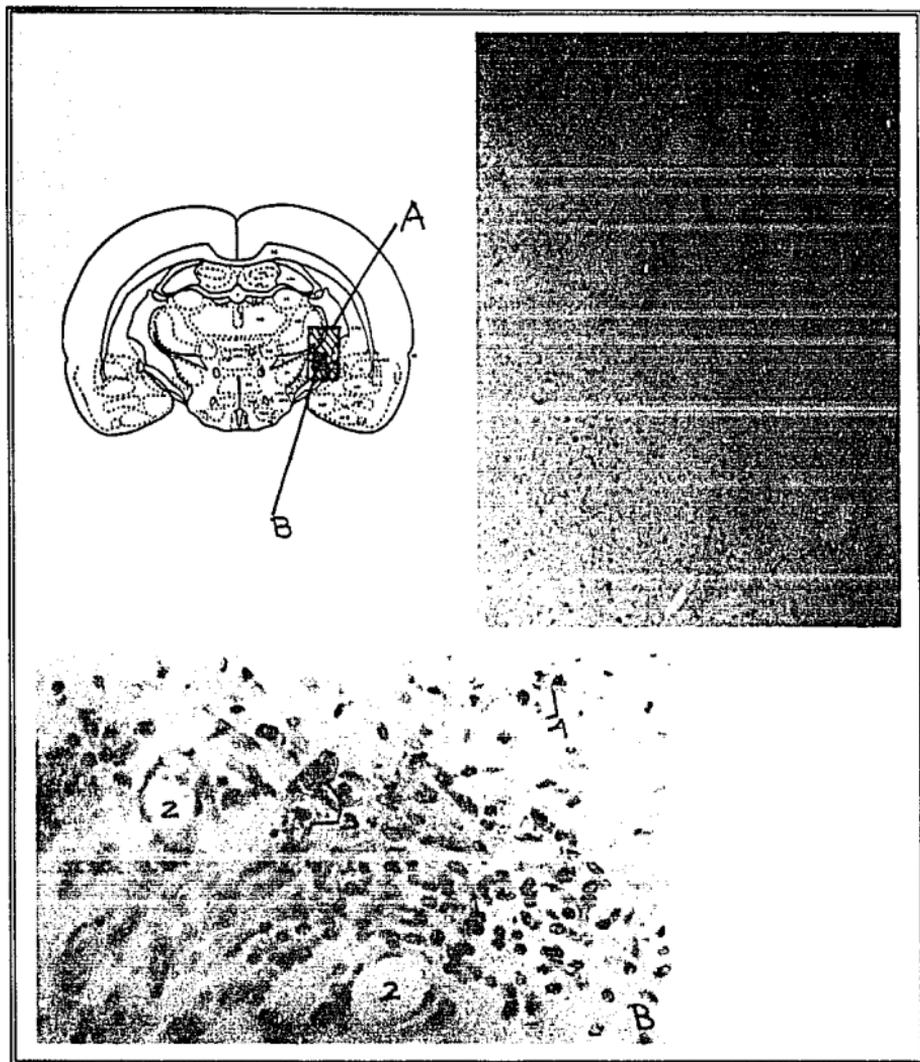


Figura 9. Cortes histológicas de tejido cerebral lesionado. Lesión verdadera. A: 100x; B: 625x. 1. astrocitos; 2.vascularización; 3. macrófagos; 4: oligodendrocitos.

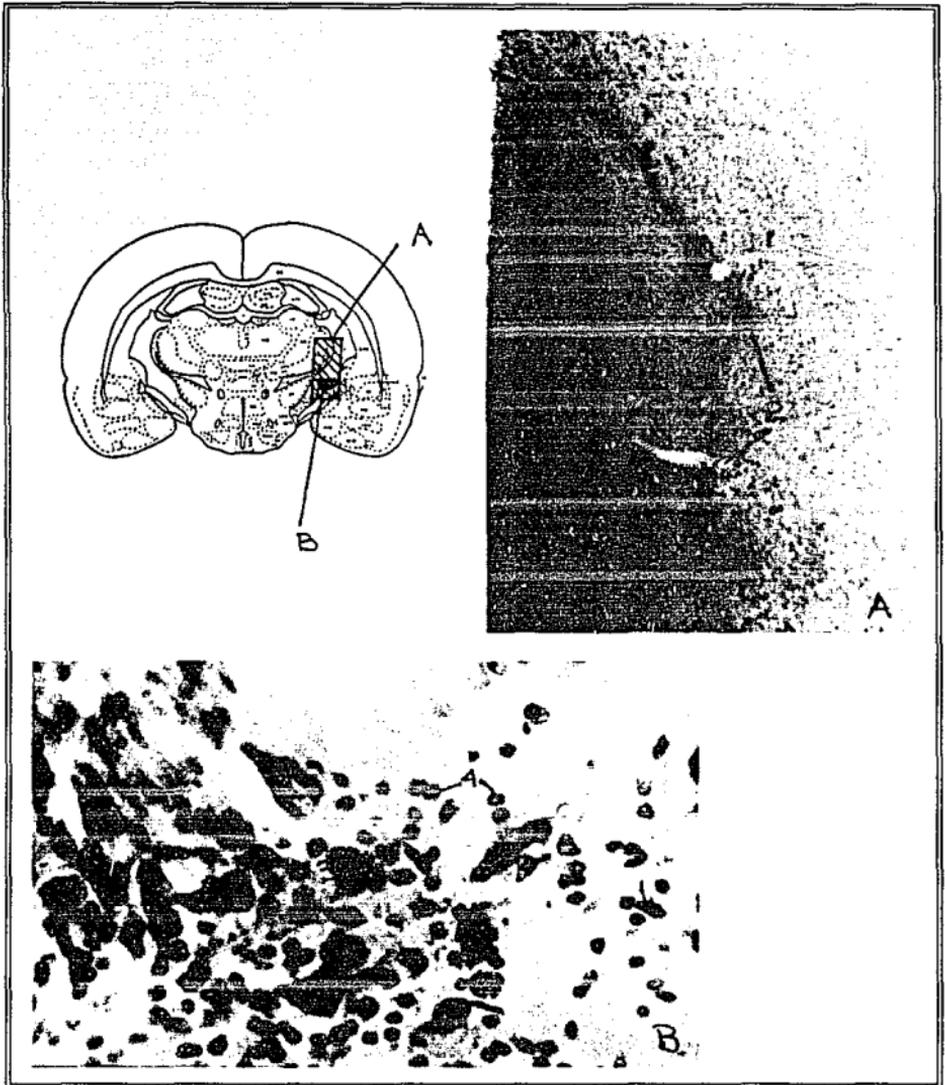


Figura 10. Cortes histológicos de tejido cerebral. Transplante falso. A: 55x; B: 625x. 1. astrocitos; 2. vascularización; 3. macrófagos; 4. oligodendrocitos.

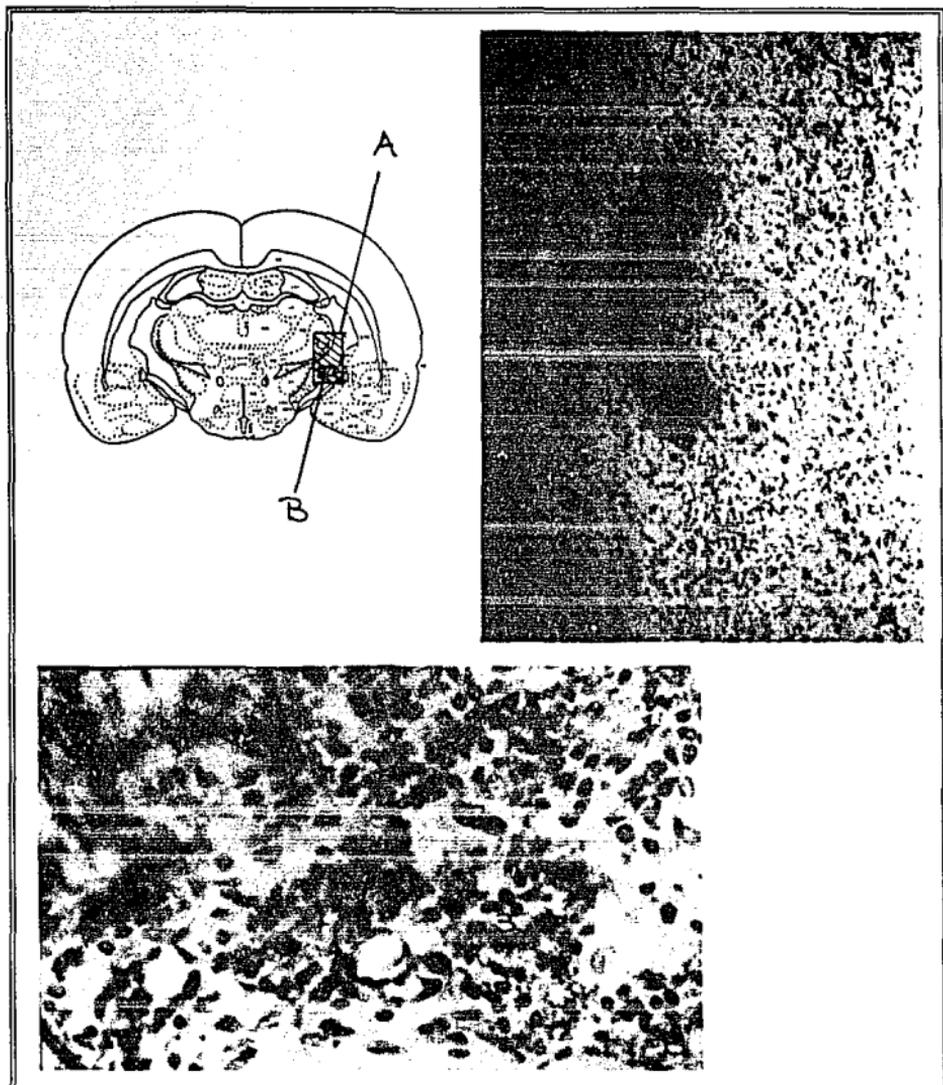


Figura 11. Cortes histológicos de tejido cerebral transplantado. Transplante verdadero. A: 100x; B: 625x. 1. tejido injertado necrosado; 2. macrófagos; 3. astrocitos.

## XII. DISCUSION Y CONCLUSIONES

El interés en la recuperación de funciones perdidas en el SNC dañado se ha basado en diversos reportes que han demostrado algunos aspectos de la dinámica en el SNC de los mamíferos cuando se están llevando a cabo procesos plásticos después de algún déficit o pérdida neuronal; luego entonces, los resultados obtenidos en este trabajo reafirman algunos de esos fundamentos y proponen algunos otros.

En consecuencia, el análisis polinomial de los registros del largo del paso, permitió determinar que aparentemente una LF no provoca efectos motores considerables en los animales de estudio, ya que en los registros del largo del paso en la LB, así como en los de la etapa PL, presentaron el mismo comportamiento sinusoidal característico de un animal normal y que, para la etapa de S, se pierde y cambia a una tendencia rectilínea sin variar el rango de registro, lo que sugiere que el patrón conductual de la marcha normal se altera por efecto de la lesión en forma tardía, característica observada desde las primeras sesiones de la etapa de S. Resultados similares reportaron Slavin y cols. en 1987; ellos lesionaron bilateralmente el córtex sensorio-motor de ratas adultas ocasionando cambios en la marcha normal. Mediante la filmación del movimiento durante la marcha de los animales lesionados, establecieron el patrón característico en animales lesionados, y mediante este análisis pudieron inferir que esos cambios en el movimiento fueron producto de la lesión. Al comparar los resultados de una lesión falsa con los de una lesión verdadera (realizada en los grupos LV, TF y TV), se encontró que el comportamiento basal se pierde en las sesiones iniciales de la etapa de PL, pero más tarde el efecto de la lesión provoca una reducción de la longitud del paso y cambia el patrón de la marcha a una forma rectilínea en las últimas sesiones, infiriendo que el efecto de la lesión se presenta tardíamente (aproximadamente después de la sesión 20 de la etapa PL) y que se acentúa en las etapas de S (grupo LV) y PT (grupos TF y TV). Por lo tanto, de acuerdo con estudios previos se confirmó que al producir una lesión intracraneal (de tipo electrofónica) en la CI se provoca que el largo del paso disminuya en su longitud (Corral, 1984; Miranda, 1985; Palacios, 1987b).

En relación al ancho del paso, el efecto de la lesión no se observó, ni caracterizó con el análisis polinomial y siempre permaneció constante con variabilidad no significativa durante las tres etapas experimentales en todos los grupos. Una posible respuesta para fundamentar porque no se observaron cambios significativos en el ancho del paso de los animales lesionados, es que el rango de apertura de las extremidades en un cuadrúpedo

esta limitado por su conformación esquelética ya que, aunque el movimiento de los huesos depende de la actividad del músculo esquelético insertado, el tipo de movimiento o grado de libertad de éste, está determinado por la articulación o conexión entre los huesos, de este modo, el movimiento de las extremidades en los animales de estudio durante su marcha, se ve limitado a sólo hacia el frente o hacia atrás con amplia libertad, mientras que los movimientos hacia adentro y hacia afuera en relación al cuerpo son mínimos y con variación no significativa, y que también, pueden presentarse en la marcha de animales normales. Palacios, en 1987b, concluyó que el ancho del paso fue identificado como una función lineal y constante en todo momento (basado en un análisis de regresión polinomial), aún después de la lesión, lo que es congruente con su función de apoyo en el desplazamiento del animal y con los resultados de este trabajo.

Ahora bien, en cuanto a la prueba de agarre, después de haber provocado la lesión, se observó una clara disminución en el tiempo de registro en los animales de todos los grupos debida, posiblemente, a que los cambios fueron lo suficientemente grandes para ser captados con el AVs. Tanto una lesión falsa como una lesión verdadera, provocaron una disminución en casi la mitad del tiempo de agarre. Los registros gráficos a través del tiempo (como medida comparativa y complementaria del AVs) mostraron que la lesión provoca un decremento en el tiempo de agarre durante la etapa de PL. También es importante mencionar que aunque al principio los animales tienden a sujetarse con las cuatro extremidades, al final y por efecto de la lesión, tienden a sujetarse únicamente con las extremidades delanteras y una trasera: la derecha, a la cual no se le dañaron sus aferencias.

Por otro lado, los datos registrados durante la prueba de nado hicieron notar que se dieron diferencias no significativas en las tres etapas experimentales en todos los grupos basadas en un AVs lo que sugirió que mediante ésta prueba no es posible medir los cambios producidos por una lesión intracraneal (falsa o verdadera, según su definición en éste trabajo) en la CI. Durante los registros se pudieron observar distintos patrones de nado entre animales normales y lesionados, pero estos no se caracterizaron por falta de equipo de video que, muy probablemente, hubiera aportado valiosa información sobre los efectos provocados por las lesiones realizadas, desde luego, ésta línea de estudio se propone para estudios posteriores y así poder cuantificar los efectos del daño cerebral motor en distintos grados, basándose en esta prueba. Observando la distribución gráfica de los datos, pudo advertirse la presencia de cambios en el tiempo de nado de los animales, reflejados en un aumento del mismo en las primeras sesiones de registro PL y, en sesiones posteriores,

volviendo a registrar valores semejantes a los obtenidos en la LB, mostrando efectos aparentes de RP; sin embargo, no es posible afirmarlo por la poca variabilidad de los datos.

Para la prueba de fuerza, de las extremidades delanteras, en los grupos LF, LV y TF después de provocar la lesión (etapa PL), se observó un aumento en la fuerza empleada por los animales debido, posiblemente, al efecto de la lesión que pudo haber provocado espasticidad en la extremidad izquierda; mientras que, en el grupo TV no se observó tal aumento. Con la gráfica de la distribución funcional de los datos en el tiempo pudo verificarse que se presentaron cambios en el patrón de distribución de los datos como producto de la lesión. Ahora bien, la espasticidad es atribuida a la interrupción de las fibras reticuloespinales inhibitorias que dejan en libertad la inhibición procedente de los reflejos espinales por lo que aumenta la actividad  $\gamma$ -motora y se tiene tono muscular, aunque los movimientos pasivos de las articulaciones se hagan difíciles (Green, 1969). Se esperaba que fuera en las extremidades traseras el cambio en la fuerza, ya que si bien la zona lesionada corresponde al control de la extremidad posterior, no se puede inferir realmente, aún con el análisis histológico, si la lesión abarcó o sólo afectó fibras del control motor de la extremidad anterior; sin embargo, la afección neurológica resultante depende de muchos factores como es el sitio específico de la lesión, la extensión de la zona afectada, así como de la lateralización, lo que puede provocar que la lesión sea única, múltiple o difusa, con pérdida motora o de sensibilidad (Gimeno, 1962; Cailliet, 1982), y aún cuando se trata de pérdida motora, esta se manifiesta de diferente manera en los distintos grupos musculares de los organismos. Por otro lado, la espasticidad también se puede explicar por procesos de hiperactividad, ya que después de ocasionar una lesión intracraneal, se induce o promueve una alta actividad metabólica en las células adyacentes intactas y poco afectadas que segregan factores tróficos para iniciar la recuperación y restaurar el daño. Estudios realizados por O'Keefe y Nadel en 1978, describieron hiperactividad e hipoeploratoriedad al aplicar una batería de pruebas (tres laberintos de aprendizaje) a ratas lesionadas en la región hipocámpal, estos animales mostraron que, cuando se transplantaba TNE a distintas estructuras del hipocampo, se presentaba la hiperactividad, aunque con diferentes magnitudes según había sido el área transplantada (Dunnett y cols., 1982). Pearson y Robinson, en 1981, reportaron que las lesiones por succión de tejido en el córtex cerebral de ratas adultas inducen períodos de hiperactividad espontánea, caracterizada por el incremento en la velocidad de la marcha en una rueda de actividad, que se pierde después de un mes de registro.

En cuanto a la fuerza de las extremidades traseras, prácticamente se observa el mismo proceso en los cuatro grupos. Después de haber realizado la lesión, se da un ligero incremento en la fuerza como producto de ésta. El aumento en la fuerza también se puede explicar como consecuencia de una espasticidad, indicando que los centros de control motor de esta extremidad muy probablemente fue afectado produciendo rigidez muscular haciéndose notar más en los animales del grupo TF.

Respecto a los procesos de recuperación en relación al largo del paso, en los animales del grupo LF el patrón sinusoide característico de la LB se pierde hasta la etapa de S y no se recupera, posiblemente por el efecto tardío de la lesión. En el grupo LV, los registros en la etapa de S, indicaron que no se presentan procesos de recuperación en cuanto al patrón conductual, (de un patrón sinusoide -etapa de PL-, cambia a uno con tendencia rectilínea -S-). Por otro lado, en el S se acentúan los efectos del daño, representados por la tendencia a disminuir el largo del paso hasta la sesión 20, manteniéndose estable hasta el final de la etapa. Quizás el registro de datos, en sesiones posteriores, hubiese permitido verificar la presencia de procesos de recuperación; no obstante, animales con diferentes extensiones de la lesión que llegaron abarcar hasta el 90% de las fibras de la porción baja de la CI, se recuperaron en un tiempo promedio de tres meses y medio (Greenough, 1976; citado por Palacios, 1987b). Sin embargo, se puede inferir que la diferencia en el tiempo de recuperación entre una lesión electrolítica y las lesiones por cánula (falsa y verdadera), es debida a la extensión del daño provocado.

En los grupos TF y TV no se dan los efectos de la recuperación de la lesión. Al igual que en el grupo LV, en éstos grupos persiste la tendencia a disminuir el largo del paso observada desde la etapa PL y que se acentúa, aún más, en la etapa PT, por lo que es muy probable que al lesionar las vías motoras procedentes de la corteza motora a la altura de la CI se este creando un ambiente hostil que no permite o retarda los procesos de recuperación de dicha zona, tanto en aspectos funcionales como anatómicos, y que ni con el injerto de tejido embrionario se pueden disminuir. Slavin y cols., en su trabajo de 1987, reportaron los efectos generados por los trasplantes de TNE (obtenido en fetos de rata con 19 días de gestación) y la inyección de gangliósidos GM1 via intraperitoneal para revertir los efectos de la lesión bilateral en la corteza sensorio-motora de ratas adultas; estos autores indicaron que la lesión de esta zona provoca déficits motores durante la marcha de la rata (analizada mediante su filmación en una prueba de corredor) caracterizando sus distintos patrones en una LB, después de la lesión y después del trasplante e/o inyección de

gangliósidos, concluyeron que: 1) la marcha característica en los animales lesionados no se recupera, y 2) el comportamiento aprendido se ve igualmente limitado y su recuperación es mínima. En el estudio *post-mortem*, cuando examinaron histológicamente los cerebros de los animales experimentales también concluyeron que: 1) la sobrevivencia de los trasplantes fue muy pobre o nula, aún en combinación con los gangliósidos, y 2) la conexión neural específica del injerto puede no ser esencial para iniciar los procesos de recuperación atribuidos a los factores tróficos y/o neurotransmisores introducidos y secretados *in situ* (citado por Lescudron y Stein, 1990).

En la prueba de agarre, los registros muestran un comportamiento muy similar para los grupos LF, LV y TF en donde sí pueden observarse pequeños indicios de recuperación después de la lesión caracterizados por el incremento en el tiempo de agarre, mientras que en el grupo TV no se observan. Aunque no se registraron datos cercanos a los basales (al menos en los grupos LF, LV y TF) el valor de agarre permanece constante aún en los registros de S (grupos LF y LV) y de PT (grupo TF), sin reducir el tiempo de agarre, lo cual indica que se dieron leves procesos de recuperación. Al examinar los datos en forma gráfica a través del tiempo en los grupos LF y LV (en la etapa de S), y TF (en la etapa de PT), se verificó que, aunque no se registró como en LB, sí existen evidencias que indican que los datos tienen tendencia a aumentar y registrar como en LB como producto de la RP. En lo que se refiere al grupo TV, los cambios dados en los registros después de la lesión (etapa PL) no indican que los animales se hayan recuperado del daño, manteniendo esa condición hasta el final de los registros PT, en donde se realiza.

Los cambios expuestos en la prueba de nado (etapa de PL), se pusieron en evidencia con las gráficas de los registros en el tiempo. Esos cambios fueron muy pequeños y poco durables ya que, al presentarse un ligero cambio producto de las cirugías de lesión o de trasplante, estos se restablecieron casi inmediatamente como consecuencia de una aparente RP y no por los efectos del TNE que en el grupo TV no se integró al tejido hospedero mostrándose degenerado, según el análisis histológico.

La fuerza de las extremidades delanteras y traseras manifestó un considerable decremento en su valor tanto en los grupos que sólo se lesionaron como en los que se transplantaron, implicando procesos de recuperación atribuidos a los que genera el propio organismo (RP). El grupo TV, también muestra recuperación, pero ésta no es atribuida al trasplante de TNE por las mismas razones que se indicaron en el párrafo anterior.

En este mismo sentido, la correlación de los resultados histológicos en el grupo LF, indicó que se llevaron a cabo procesos de reconstrucción del tejido dañado ya que así lo muestra la cicatriz astrocítica, por lo que se determinó que en éste grupo el daño provocado por la lesión no fue de una considerable magnitud; además de que la escasa presencia de macrófagos señaló que la fagocitosis del material celular degenerado había terminado. Por otro lado, en el grupo LV estaba en proceso la reparación del área dañada, debido a que la cicatrización aún no había llegado a su término teniendo como característica principal la presencia relativamente alta de macrófagos.

Los animales que recibieron TF mostraron, a lo largo de la trayectoria de la cánula, procesos de cicatrización; además, de una fagocitosis del material celular degenerado caracterizada por la abundancia de macrófagos. En el grupo TV, la presencia de macrófagos y astrocitos determinó que continuaban los procesos de reparación, tanto en la CI, como en el tejido adyacente; además, no se observó sobrevivencia del injerto. Dunnett y cols., en 1986, reportaron la obtención de una tasa relativamente baja de degeneración del tejido transplantado en el hipocampo de ratas (29%, 11% y 0% en tres experimentos con las mismas condiciones experimentales) describiendo que en la zona en donde se colocó el tejido, se presentó degeneración y acumulación del mismo sin muestra de sobrevivencia celular referida por las tinciones con la técnica de Nissl (Lescuadron y Stein, 1990). Es muy posible que en la mayoría de los trabajos de este tipo, existan casos en donde el tejido injertado muere a causa de diversos aspectos de viabilidad y de técnica aún no controlados; sin embargo, se siguen reportando, en su mayoría, sólo los resultados positivos. Manthorpe y cols. (1983) reportaron que la sobrevivencia de trasplante de células embrionarias en una cavidad del córtex entorrinal-occipital de ratas en desarrollo, tuvo una pobre sobrevivencia cuando éste se transplantó pocos minutos después de haber realizado la lesión, mientras que el tejido que se introdujo seis días después obtuvo un 76% de viabilidad.

Resumiendo, estos resultados nos permitieron concluir que:

1) una lesión falsa provoca alteraciones de tipo motor y conductual que se recuperan casi en su totalidad en pocos días, mientras que una lesión verdadera ejerce un gran daño y la recuperación de los animales ocurre tardamente o no se presenta. Sin embargo, la gravedad de los trastornos producidos por lesiones en zonas de control motor está en función de la filogenia del organismo; la rata casi no resulta afectada, el gato exhibe un déficit temporal y una notable recuperación, y en los primates se muestran trastornos motores

severos de larga duración (Green, 1969), lo que implica que el grado de recuperación esta en función de la complejidad de las zonas motoras en el organismo y el grado de lesión que se les realice. De igual manera, diversos reportes han mostrado que las lesiones en distintas estructuras cerebrales, producen deficiencias motoras y/o conductuales en distintos grados (Green, 1969; Kromer y cols, 1980; Kolb y Wishaw, 1986; Palacios, 1987b; Slavin y cols., 1987; Aguilar y cols, 1991) que pueden o no recuperarse. La mayoría de estos trabajos mencionan en sus resultados una gran mejoría de los animales lesionados después del tratamiento aplicado, pero no acentúan el hecho de que esa recuperación puede ser parcial y que los efectos de las lesiones disminuyen, pero no se revierten totalmente.

2) los cambios producidos por las intervenciones intracraneales fueron susceptibles de medición con la batería de pruebas poniendo en evidencia la severidad del daño y la magnitud de la recuperación de los animales experimentales. Estos aspectos son muy importantes para poder fundamentar el procedimiento a seguir para inducir recuperación en animales sometidos a hemiplejía experimental.

3) el patrón gráfico en la marcha de los animales normales fue caracterizado como de tipo sinusoidal, mientras que en los sujetos lesionados fue de tipo rectilíneo.

4) el cambio en la distribución funcional de los datos (de sinusoidal a rectilíneo) y el decremento en el largo del paso, son producto de la lesión intracraneal en la CI.

5) antes y después de las intervenciones intracraneales, el ancho del paso se mantiene constante y es identificado como una función lineal.

6) el AVs no proporciona la información necesaria para poder determinar la presencia de cambios generados por las intervenciones intracraneales en las pruebas de agarre, nodo y fuerza.

7) el efecto del daño cerebral motor y de otras variables experimentales pueden ser, indiscutiblemente, caracterizados en mayor medida con un análisis gráfico de la distribución funcional de los registros a través del tiempo.

8) el tejido embrionario no se desarrolló favorablemente en la CI mostrando degeneración celular, como lo indicó nuestro análisis histológico. Probablemente, la CI no es una zona propicia para que se desarrolle el tejido fetal. En su trabajo, Marion y Lund en 1987, concluyeron que la zona cerebral escogida para realizar el trasplante es de vital importancia para la sobrevivencia y desarrollo del mismo, ya que el medio ambiente en donde se coloca el injerto determina las características para que se de o no el crecimiento del tejido (Lescudron y Stein, 1990); o bien, que la técnica de disociación no fue realizada

correctamente y las neuritas estaban muertas al momento de transplantarse, debido posiblemente al efecto de la tripsina o al pipeteo excesivo al que se les sometió para hacer la disociación. Brundin y cols., en 1985, reportaron que al utilizar diferentes tipos de TNF (mesencéfalo ventral, primordio del estriado y cerebro anterior) no todos fueron resistentes al efecto de la tripsina y al daño mecánico del pipeteo durante la disociación, siendo variable el grado de resistencia para cada tipo de tejido.

9) el uso de TNE transplantado en la CI, no provee de los factores y mecanismos que promueven recuperación funcional en otras áreas del cerebro, como lo es el sistema límbico (aspectos conductuales), el sistema visual y en los modelos experimentales de las enfermedades de Alzheimer y de Parkinson, pérdida de la memoria por alcoholismo, etc. (Kromer y Björklund, 1979; Kolata, 1982; Low y cols., 1982; Marx, 1982; Freed, 1983; Manthorpe y cols., 1983; Dunnett y Björklund, 1987; Nilsson y cols., 1988; Aguilar y cols., 1991).

10) En los cuatro grupos experimentales, los cortes histológicos mostraron que el elemento glial que más predominó fue la astroglia, ya que la presencia de oligodendrocitos y fibrocitos fue escasa. Los macrófagos únicamente fueron abundantes en los grupos TF y TV. Es importante la presencia de astrocitos ya que es bien conocida su función en relación con la reparación subsecuente a una lesión, entre las funciones principales que llevaron a cabo en los diferentes grupos experimentales se proponen las siguientes:

- a) Invasión o poblar los huecos de espacio extracelular producidos por la degeneración progresiva de los elementos neurales y gliales (Skoff, 1975; Raisman, 1977; Nathaniel y Nathaniel, 1973; citas en Reier, 1986), para restablecer el sostén del tejido nervioso.
- b) Reconstrucción de la membrana glial limitante, la cual fue lesionada. Esta membrana es importante ya que, aparte de recubrir al SN, rodea y le forma un embudo a los vasos sanguíneos que penetran al SNC y, de esta manera, no presenta contacto físico con las neuronas, aunque sí le provee de los nutrientes necesarios (Reier, 1986; Walley y cols., 1987).
- c) Otra de las funciones que probablemente llevaron a cabo, y que durante algún tiempo fue tema de controversia, fue la producción de sustancias que promueven la sobrevivencia neuronal y elongación neurítica (Reier, 1986), así como la producción de factores neurotróficos (Nieta y cols., 1982).

En relación a la oligodendrogliosis, se ha sugerido que de todos los tipos neurogliales, ésta es la última en aparecer como respuesta a los productos de degeneración, ya que éstas células muestran poca o ninguna actividad fagocítica (Vauhg y cols., 1970; citado por

Lindsay, 1986). Los macrófagos, además de fagocitar, aportan factores de crecimiento a los astrocitos (Giulian y cols., 1986; citado por Coffey y cols., 1990).

Finalmente, el AHMR es un proceso dinámico y no estático, y con un análisis estadístico convencional no pueden ser detectados en detalle cambios provocados por las intervenciones intracraneales. Sin embargo, esos cambios pudieron identificarse con un análisis de ajuste polinomial (Palacios, 1987b). Otra forma de poner en evidencia esos cambios en la marcha patológica de los sujetos experimentales, consiste en analizar las distintas variables como un estudio longitudinal en el tiempo o una serie de tiempo (i.e. la distribución funcional en el tiempo de todos los datos obtenidos con los animales de estudio expresados gráficamente), de tal manera que nos permita apreciar de mejor manera las diferencias entre los grupos, así como las diferencias existentes en cada uno de los grupos comparando las tres fases experimentales, o bien, analizando a cada fase de manera independiente; quizá, en trabajos posteriores, aporte un análisis más detallado de la marcha de sujetos normales y lesionados, así como sujetos sometidos a otras condiciones experimentales. El análisis propuesto para un estudio longitudinal como éste, es el siguiente (Mtro. Rafael Madrid Rios; comunicación personal): primero, un análisis discriminante el cual permitirá establecer las diferencias existentes entre dos o más grupos utilizando funciones lineales de clasificación, de tal manera que esas diferencias puedan ser especificadas a través de las variables experimentales. Segundo, un análisis con mediciones repetidas para poder establecer el efecto de cada una de las variables sobre un registro en determinada sesión y la relación de éste con los demás en cada una de las fases. Y tercero, un análisis de series de tiempo propiamente dicho (BMDP Data Manager Manual, 1990) el cual considera dos o más series de tiempo bajo las mismas condiciones experimentales para caracterizar y explicar su distribución funcional en el tiempo incorporando funciones de transferencia y de intervención o ambas. Las funciones de transferencia explican a una serie de tiempo no sólo en función de ella misma, sino también basándose en otra serie muy relacionada (ejemplo: el largo del paso explicado en función del peso corporal); las funciones de intervención permiten modelar gráficamente las diferencias por efecto de las variables experimentales dentro de los grupos en o entre cada una de sus fases de estudio (ejemplo: el efecto después de la lesión intracraneal y su recuperación en los animales experimentales).

La variación en los pesos de los distintos animales en los grupos experimentales, no es una variable suficientemente drástica como para producir diferencias en los patrones de

la marcha en animales normales (Mullenix y cols, 1975; Corral, 1984); además, el peso corporal de los organismos bajo condiciones experimentales de restricción al movimiento y bajo los efectos del haloperidol en distintas dosis, no se ve afectado significativamente; sin embargo, es necesario que se empleen animales con pesos similares al ingresar a la LB durante la toma de registros para disminuir la probabilidad de efecto sobre las variables de estudio (Corral, 1984).

### XIII. APENDICE

La siguiente información tiene como finalidad dar un panorama más amplio de algunos aspectos de importancia tratados en este trabajo.

#### 1. EFECTOS DE LA LESION CEREBRAL EN EL SNC

El estudio neurológico de las lesiones locales del cerebro puede, con toda justificación, considerarse como principal origen de los conceptos modernos de la organización funcional del cerebro como órgano de actividad mental. Las observaciones clínicas sobre las secuelas de las lesiones cerebrales empezaron hace muchos años; incluso en una etapa temprana se descubrió que una lesión de carácter motor, conducía a una parálisis de los miembros del lado opuesto del cuerpo, una lesión en la región postcentral del córtex, conduce a una pérdida de la sensación de la parte opuesta del cuerpo, y lesiones en la región occipital del cerebro ocasionan una ceguera central. El verdadero nacimiento de la investigación científica de las alteraciones de los procesos cerebrales puede situarse en el año 1861, cuando el anatomista francés Paul Broca describe una importante alteración del lenguaje motor (expresivo), mostrando que el tercio posterior del giro frontal (inferior) del cerebro del paciente estaba destruido. Postulando que una lesión en éste sitio lleva a un tipo característico de pérdida del lenguaje expresivo denominándolo "afasia", término que todavía se utiliza. Para 1873, el psiquiatra alemán Carl Wernicke describió que una lesión en el tercio posterior del giro temporal superior izquierdo, ocasiona pérdida de la habilidad para comprender el lenguaje audible, mientras que el lenguaje expresivo (motórico) permanecía relativamente inalterado. Como resultado de éstos descubrimientos, se hallaron otros centros de "localización" directa de funciones en el córtex cerebral. Hacia 1880, neurólogos y psiquiatras pudieron dibujar "mapas funcionales" del córtex cerebral, que según ellos, resolvían el problema de la estructura funcional del cerebro. Investigadores como el psiquiatra alemán Kleist (1934) y el neurólogo americano Nielsen (1936), siguieron aún con la idea de la localización de áreas del cerebro para definir funciones cerebrales. Sin embargo desde 1880 Hughlings Jackson, neurólogo inglés, propone la hipótesis de que la organización de las funciones cerebrales debe de abordarse desde del punto de vista del nivel de su construcción, más que de su localización en áreas particulares del cerebro. Esta hipótesis es reconsiderada muchos años después, en la primera mitad del siglo XX; neurólogos como Monakow, Head y Goldstein (citados por Luria, 1974),

postularon que las complejas funciones llevadas a cabo por el cerebro, son el resultado de la actividad conjunta del mismo. Bethe (1930; citado por Miranda, 1986), realizó investigaciones que lo llevaron a reconsiderar los efectos de la destrucción de tejido nervioso y a proponer el concepto de PC. Este autor basó su proposición en demostraciones acerca de la reorganización conductual posterior a la amputación de una, dos y tres extremidades en anfibios. La gravedad de los trastornos producidos por las lesiones de la corteza motora está en función de la filogenia del organismo. La rata casi no resulta afectada, el gato exhibe un déficit temporal y una notable recuperación, y en los primates muestran trastornos motores severos de larga duración. Las lesiones de la corteza motora no parecen trastornar la conducta aprendida, así, que las lesiones de la corteza motora izquierda darán lugar a una debilidad muscular del lado derecho del cuerpo (Green, 1969).

La lesión en una porción del SNC se acompaña de alteraciones funcionales, la mayoría de ellas específicas. En el caso de los mamíferos, la duración de dichas alteraciones depende de la extensión de la lesión, la importancia que tiene el sitio lesionado en la regulación de determinada función (Aguilar y cols., 1991) y la especie que se este interviniendo. Esa recuperación puede durar días, semanas, años o incluso no presentarse. La mayoría de las lesiones naturales y las provocadas tienen como resultado la muerte neuronal; pero existen casos en donde esa lesión se manifiesta como un cambio en la actividad neuronal que provoca un comportamiento distinto al ya establecido. Las lesiones cerebrales pueden tener tres efectos bastante distintos: A) Pérdida de una función, B) Producción de una función (hiperactividad) y C) Desorganización de una función (Kolb y Whishaw, 1986).

## 2. ACONTECIMIENTOS CELULARES ASOCIADOS A LA LESION CEREBRAL

Una lesión cerebral provocada por succión de tejido deja una cavidad de tamaño variable, debido a la degeneración del tejido circundante, a la acumulación de líquido y a la reducción del tejido circundante, la cavidad puede aumentar de tamaño en una semana y entonces empezar a disminuir o desaparecer completamente con el tiempo. Cuando se presenta reducción de la cavidad, ésta puede causar distorsiones en el tejido circundante de forma que los ventrículos pueden expandirse para compensar la pérdida de volumen tisular. Aproximadamente una hora después de producirse la lesión, el tejido muerto rodea la cavidad y rodeando esta área de necrosis hay un área de tejido formado por células lesionadas, muertas y normales, al cabo de 24 horas los fagocitos (astrocitos y microglia) se

infiltran en el área para sacar los desechos. De los tres a los siete días, nuevos capilares proliferan en esta área. Estos procesos pueden continuar varios meses hasta que se han eliminado los desechos y solo quedan las células gliales. Al examinar el tejido lesionado en un corte histológico se observan muchas células gliales que llenan el área lesionada, proceso denominado gliosis, entre las cuales los astrocitos forman una cicatriz en el área mencionada, la cual puede impedir o bloquear la regeneración de las restantes células nerviosas. La lesión cerebral en un área determinada no solamente provoca destrucción de células locales, sino que puede cortar las fibras de células localizadas a distancia y también producir cambios en las células que anteriormente inervaban la región o eran inervadas por éstas. Estos cambios implican la ruptura o muerte del tejido, proceso denominado degeneración. Hay varios tipos de degeneración que implican procesos distintos. Cuando un nervio es seccionado, la parte distal al corte siempre degenera. Este proceso fue señalado por primera vez en 1850 por Waller, de ahí que este tipo de degeneración se denomine degeneración walleriana o anterógrada. La degeneración anterógrada en el SNC es en parte distinta de la que se produce en el SNP. En el SNC, los axones degeneran de la misma forma que lo hace la mielina que los envuelve, y hay muy poca o ninguna regeneración. En el SNP el proceso es distinto, ya que se produce un poco de regeneración, no todas las células de Schwann que forman la mielina mueren, con lo que subsecuentemente se multiplican y forman un puente que las fibras que se están regenerando pueden cruzar para volver a inervar su objetivo. La reinervación no puede producirse en el SNC porque los oligodendrocitos que forman la mielina no proliferan y también porque la cicatrización puede bloquear el nuevo crecimiento. Los pies terminales de los axones cortados también cambian, volviéndose densos y pequeños, a este tipo de degeneración se le denomina degeneración terminal. Las partes proximales del axón y el cuerpo celular no siempre degeneran, pero, si lo hacen, el proceso se denomina degeneración retrógrada. En el cuerpo celular desaparece la sustancia de Nissl, el núcleo se desplaza a la periferia de la célula y la célula puede hincharse hasta doblar su tamaño normal. Para algunas neuronas (por ejemplo, las neuronas motoras), la degeneración retrógrada es reversible, mientras que para otras (por ejemplo, las neuronas talámicas) no lo es. En el primer caso, las células recuperan el tamaño normal, pero en el segundo se crean y se eliminan por fagocitosis. Las células que inervan o que eran inervadas por una neurona que está en degeneración también pueden morir, proceso denominado degeneración transneuronal. Este proceso fue observado por primera vez en el sistema visual.

Cuando se corta el nervio óptico, las células del cuerpo geniculado lateral degeneran completamente. Se cree que las células degeneran porque requieren un nivel óptimo de estimulación del nervio óptico para sobrevivir o porque estos pies terminales suministran alguna sustancia trófica necesaria. Un tipo de proceso similar parece ocurrir en los músculos, ya que, cuando se cortan estos, sus nervios se reducen y debilitan. La degeneración transneuronal puede producirse en más de una sinapsis, por ejemplo, las células de la corteza visual también pueden empezar a morir después de que degenera el cuerpo geniculado lateral. La degeneración transneuronal también puede producirse en la dirección opuesta, en las células de la inervación. El primer proceso se refiere a la degeneración transneuronal anterógrada y el segundo a la retrógrada. La degeneración transneuronal también puede asociarse con la acumulación de depósitos de calcio, proceso denominado calcificación. Por ejemplo, como respuesta a una lesión neocortical, puede producirse calcificación en las neuronas talámicas en degeneración (también un lugar de degeneración retrógrada) y en los ganglios basales (un lugar posible de degeneración transneuronal secundaria). Estos depósitos pueden ser tan pronunciados que se ven fácilmente en el material histológico. Aunque las razones de esta calcificación y la forma en que se produce se desconocen, su presencia puede tomarse como un indicador de ciertas tipos de lesiones corticales o subcorticales (Kolb y Whishaw, 1986).

Los distintos procesos degenerativos dan pruebas relevantes para una serie de aspectos que se pueden tomar en cuenta. En primer lugar, el hecho de que los cambios degenerativos se produzcan en tantos lugares y de tantas formas hace imposible afirmar que se puede localizar incluso la más pequeña lesión. Por ejemplo, una pequeña succión de la corteza frontal puede visualizarse fácilmente y puede parecer que se ha localizado, pero, ¿se producirá degeneración retrógrada y calcificación en el tálamo, degeneración transneuronal secundaria y calcificación en los ganglios basales, o degeneración walleriana y terminal por toda la neocorteza, tronco encefálico y médula espinal?. Queda claro que la lesión cerebral no puede localizarse estrictamente, sin embargo, con técnicas histológicas apropiadas ésta puede visualizarse fácilmente. Por ejemplo, el proceso de degeneración walleriana puede ser evidenciado por el método de Weigert; en condiciones normales la mielina se tiñe de color azul, pero, cuando hay lesión, la mielina de los axones no se tiñe, con lo que dejan una imagen negativa de la ruta que había sido tomada por el axón. En tanto que la degeneración retrógrada puede detectarse mediante el método de Nissl empleando colorantes de anilina básicos, tales como cresil-violeta, azul de toluidina o

flonina. La ausencia de sustancia de Nissl hace que la célula sea incolora, proceso denominado cromatólisis, y esto puede detectarse con la imagen negativa que dejan las células, ya que pierden su afinidad por los colorantes de la sustancia de Nissl. En segundo lugar, es importante señalar que la degeneración ha sido la clave no sólo para comprender las lesiones cerebrales, sino también para comprender cómo están conectadas entre sí las distintas partes del cerebro. En tercer lugar, muchos de estos cambios degenerativos se sabe que continúan durante años, pero aún no se sabe cómo se asocian con los cambios en el comportamiento (Kolb y Whishaw, 1986; Barr, 1974).

Después de una lesión cerebral, no sólo se pierde tejido nervioso y su función, sino que hay varias áreas relacionadas con el sitio lesionado que también están afectadas y consecuentemente su función desaparece durante un período de tiempo. Uno de los procesos fisiológicos importantes relacionado con la anterior es quizás sin lugar a duda el edema cerebral. El edema o hinchazón del tejido como resultado de un traumatismo, se produce en el área circundante a la lesión, pero puede, mediante presión y otros mecanismos afectar a sitios distantes. En general, el tejido intersticial es como un globo aplastado con respecto al líquido. Debido a un aumento de la presión capilar a cambios en la composición del líquido capilar o a un aumento de la porosidad de los capilares, el líquido fluye o se acumula en el espacio intersticial, lo que hace que éste se hinche. La consiguiente presión probablemente deprime la función neuronal y provocar algunas deficiencias postraumáticas (Kolb y Whishaw, 1986).

El efecto del daño ocasiona cambios en las células nerviosas manifestándose una degeneración, cuando ocurre en el cuerpo celular, es llamado reacción axonal y cuando éste se presenta en los axones propiamente dicho, se llama a la reacción degeneración walleriana. La destrucción de cuerpos celulares o la interrupción de fibras nerviosas, provoca la degeneración de cilindros axonales y vainas de mielina de nervios periféricos. La presencia del material degenerado sirve como un estímulo a las células de la microglia que revelan su actividad potencial como macrófagos removiendo ese material por fagocitosis. Aunque la regeneración axonal es severa en el SNC de peces y larvas de anfibio, esta es mínima y mejor en los mamíferos. En lugar de ello, la región afectada o fascículo es cambiada dentro de una forma especial de tejido cicatrizado por la proliferación de astrocitos como anteriormente se indicó. La pérdida de la función resultado de diversas lesiones es de primera importancia para estimular la regeneración de fibras nerviosas. Diversos fármacos han sido probados para reducir la acción glial. En estos se ha encontrado

que estimulan el crecimiento axonal a través y más allá del lugar en donde se realizó el corte en la médula espinal de animales experimentales; el efecto fue mayor en animales jóvenes que en adultos pero de algún modo se presentó. La regeneración se presenta después de un tratamiento con hormona tiroidea, la cual probablemente activa la fase de incremento de la punta axonal. El descubrimiento del FCN, que puede extraerse de las glándulas salivales del ratón y otras fuentes, ha estimulado interés en posibilidades futuras. La sustancia activa, consistente de proteínas, tiene la propiedad de estimular al ARN para la síntesis de proteínas en células ganglionares simpáticas y cerebroespinales *in vivo*, mostrando incremento en el tamaño y una remarcable actividad metabólica (Barr, 1974).

### 3. TECNICAS PARA CAUSAR LESION CEREBRAL

La ubicación de diversas regiones cerebrales se conoce desde el siglo XIX en base a estudios anatómicos y de lesiones. Estudios recientes han hecho notar que la distinción de un área específica es bastante relativa debido a que se superponen con otras áreas participando en mismas funciones. Es necesario una gran cantidad de experimentos antes de que podamos concluir que una región cualquiera del cerebro es el único y exclusivo "centro" de un aspecto particular de la conducta. Sin embargo, los estudios de lesiones nos han proporcionado gran parte del conocimiento sobre el papel de diversas estructuras en la conducta de los organismos. Las lesiones profundas se causan colocando electrodos mediante el uso de un aparato estereotáxico que fue introducido por primera vez por Horsley y Clarke (1908). El objetivo principal del uso del aparato estereotáxico es el de colocar un electrodo de alambre o una cánula, en una posición dada en la profundidad del cerebro. Si hacemos penetrar simplemente a mano un alambre en el cerebro, no tendremos idea del lugar en que se encuentra su punta. El aparato estereotáxico mantiene la cabeza del animal en una posición fija y permite la inserción de electrodos en lugares que tienen una relación conocida con el cráneo. Los aparatos estereotáxicos están calibrados en coordenadas rectangulares o, menos frecuentemente, en polares. Esto se lleva a cabo haciendo un esquema de las localizaciones anatómicas de todas las estructuras cerebrales de un animal "estándar" o "promedio", en cuanto a su peso y tamaño, colocado en posición adecuada en el soporte. Los atlas estereotáxicos que se preparan en esta forma nos dan secciones amplificadas transversales, a un milímetro de intervalo, de todo el cerebro, a la vez que se proporcionan las coordenadas estereotáxicas. Cualquier lugar del cerebro puede, así, ser descrito y localizado mediante un grupo de tres coordenadas rectangulares. Partiendo del

punto de referencia básico, las barras se colocan en los conductos auditivos. Todas las localizaciones pueden ser descritas en términos de cuán adelante o hacia atrás están de estas dos barras, o cuán arriba de ellas, y también de cuánto están hacia un lado u otro de la línea media de la cabeza del animal. Todos los atlas estereotáxicos proporcionan números para cada una de las secciones cerebrales a las que se refieren estas medidas (Green, 1969).

Como anteriormente se citó, el enfoque más viejo y aún más utilizado para el estudio de la función cerebral y sus problemas en los organismos, es analizar los efectos de la lesión en el SNC. Al realizar lesiones en animales, simulando a las que se ocasionan por accidentes en humanos, se trata de explicar diversos mecanismos que se involucran en la recuperación de la misma ayudándose para esto de diversas técnicas para producir esas lesiones como es que se puede lesionar cierta zona cerebral con ayuda de un aparato estereotáxico de manera química al colocar una sustancia tóxica, de forma electrolítica pasando una fuente de corriente eléctrica, succionando tejido en pequeñas porciones, y calentando o enfriando (Kolb y Whishaw, 1986).

#### 4. SISTEMA MOTOR VOLUNTARIO EN EL SNC DE MAMIFEROS

El sistema motor voluntario tiene una estrecha relación con los sistemas sensoriales específicos debido a sus relaciones anatómicas y fisiológicas con el sistema cutáneo o dermosensorial al nivel de la corteza. Unidos, se les llama comúnmente sistema sensoriomotor. El núcleo talámico de relevo del componente motor del sistema (el *ventralis lateralis*) se encuentra en el mismo grupo nuclear del tálamo en el que se halla el sistema sensorial cutáneo (*ventralis postero-lateralis* y *ventralis postero-medialis*), confirmando esto su estrecha relación anatómica. El núcleo de relevo del sistema motor recibe impulsos del cerebelo a través del *nucleum conjunctum*, y reexpide estos impulsos hasta la corteza motora. La corteza motora también recibe impulsos de la corteza sensorial cutánea, y envía axones descendentes a través de los pedúnculos cerebrales y los tractos piramidales, hasta llegar a las células del sistema propioespinal en la médula, para producir los movimientos complejos de las extremidades. En los primates, muchas de estas fibras motoras descendentes también terminan en las neuronas motoras de la raíz ventral que inervan directamente los músculos de las extremidades y que aparentemente rigen el control delicado de los músculos. El núcleo de relevo sensorial cutáneo del tálamo recibe sus impulsos de los lemniscos laterales medios y reexpide la información sensorial somática,

desde estas fibras hasta la corteza sensorial cutánea. El sistema sensoriomotor sustenta los movimientos integrados producidos por las contracciones de diversos músculos, pero no controla la contracción de los músculos individualmente. El tracto corticoespinal (vía piramidal) constituye la vía de la motilidad voluntaria rápida. Las fibras se cruzan al otro lado de la médula (decusación piramidal) a la altura del bulbo raquídeo en su parte inferior y corren hacia abajo en las columnas laterales de sustancia blanca. Antes de llegar a la célula del asta anterior existe probablemente una pequeña neurona internuncial. Aproximadamente del 20 al 40% de las fibras del tracto piramidal se originan en la corteza motora primaria, un 20% provienen de *girus postcentral*, otro 40% de las fibras se originan en distintas regiones que no pertenecen al área motora: regiones prefrontales, parietales, temporales y occipitales; cerca de un 2% de las fibras piramidales provienen de las células gigantes o de Betz. Comúnmente se distinguen dos tipos de sistemas motores: el piramidal, que actúa sobre las motoneuronas, descendiendo desde la corteza cerebral hasta la médula espinal directamente sin interrupción (la mayoría de los cuerpos celulares están en la corteza motora) y el extrapiramidal. En términos generales y simplificando un poco las cosas, podemos caracterizar al sistema piramidal como el mecanismo de control rápido y preciso de los movimientos de las extremidades (Fig. 12). Tal parece que el fascículo piramidal aparece en forma tardía durante la evolución, presentándose sólo en mamíferos, con gran desarrollo en los superiores, alcanzando su máxima complejidad en los primates como lo es el desarrollo filogenético de la corteza cerebral.

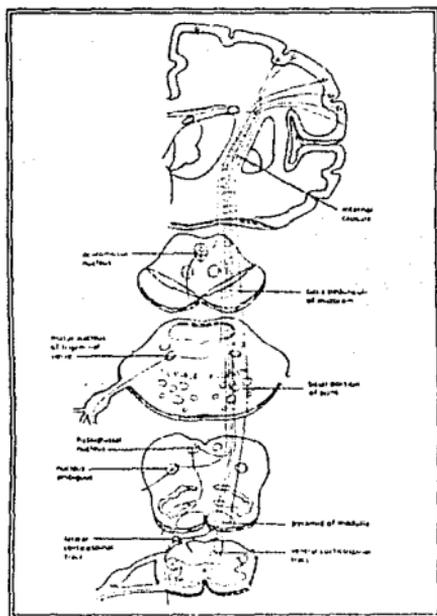


Figura 12. Vía piramidal (tomado de Barr, 1974).

Leyendas: internal capsule= cápsula interna, oculomotor nucleus= núcleo oculomotor; basilar pedunculi of midbrain= pedúnculo basal del cerebro medio; motor nucleus of trigeminal nerve= núcleo motor del nervio trigémino, basal portion of pons= porción basal del puente o protuberancia; hypoglossal nucleus= núcleo hipogloso; nucleus ambiguus= núcleo ambiguo; pyramid of medulla= pirámide medular; lateral corticospinal tract= tracto corticoespinal lateral, ventral corticospinal tract= tracto corticoespinal ventral.

Además del tracto corticoespinal y de las neuronas medulares locales, la célula del asta anterior se encuentra bajo la influencia de las neuronas procedentes de los centros superiores conocidas colectivamente como las fibras extrapiramidales. Los tractos extrapiramidales comprenden el tracto reticuloespinal procedente de la formación reticular, el tracto vestibuloespinal procedente de los núcleos vestibulares, el tracto tecto-espinal procedente del techo (cuerpos cuadrigéminos superior e inferior para los reflejos óptico y auditivo), los tractos olivoespinal y el rubroespinal, procedentes del núcleo de la oliva y del núcleo rojo, respectivamente.

Las fibras reticulospinales que forman parte del sistema extrapiramidal son de dos tipos, inhibitoras y facilitadoras. La estimulación de la formación reticular medular inhibe las células del asta anterior y anula los movimientos que se originan en la corteza o a partir de los reflejos espinales. Las fibras reticulospinales descendentes procedentes de ésta región están difusamente dispersas por todas las columnas anterior y lateral de la sustancia blanca de la médula espinal. Esta actividad inhibitora se origina a partir del cerebeto, los ganglios basales y la corteza cerebral. Una importante área cortical inhibitora se encuentra en la banda supresora que está situada exactamente por delante de la corteza motora. Las fibras procedentes de estas regiones hacen estación en la formación reticular en la médula. La estimulación de la formación reticular por encima del tallo cerebral da lugar a la facilitación tanto de los movimientos corticales como de los inducidos reflejamente.

Como antes se indicó, el cerebeto desempeña un importante papel en la regulación de la actividad del sistema extrapiramidal, pero no existen tractos directos cerebeto-medulares. Es una de las estructuras más antiguas filogenéticamente de los vertebrados; sus funciones generales son evidentemente motoras. Su estructura anatómica consiste de tres capas: 1a. externa, de fibras y células en canasta; 2a. media, con células de Purkinje (células eferentes) y 3a. interna, con células granulares o granulosas (Fig. 13).

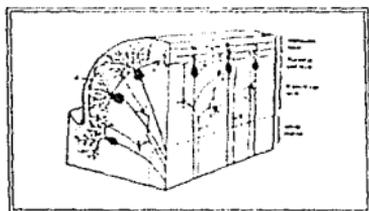


Figura 13. Citoarquitectura del córtex cerebelar (tomado de Barr, 1974)

Legendas. molecular layer= capa molecular, Purkinje cell layer= capa de células de Purkinje; granule cell layer= capa de células granulares, white matter= sustancia blanca, a. células granulares; b. células de Purkinje, c. células en canasta, d. células estrechadas, e. células de Golgi, f. fibra ramificada, g. fibra ascendente.

La organización cerebelosa de los mamíferos tiene un gran número de interconexiones con diversas áreas de la corteza cerebral como lo es el área motora primaria a través de los núcleos cerebelosos lateral e interposito y de los núcleos ventrales laterales del tálamo.

## 5. FUNCIONES MOTORAS DE LA CORTEZA CEREBRAL

La corteza cerebral representa el desarrollo más reciente en la evolución del SN de los vertebrados. En términos generales podemos afirmar que existe cierta correlación entre la magnitud del desarrollo cortical de una determinada especie, con su posición filogenética y con el grado de complejidad y flexibilidad característicos de su conducta. Determinados sistemas motores pueden advertirse con facilidad como si partieran de la corteza y llegaran hasta los músculos. Puesto que los organismos superiores pueden responder en forma diferencial a una gran cantidad de estímulos físicos diferentes, es evidente que ciertos tipos de procesos de "codificación" pueden tener lugar desde la entrada sensorial a través de procesos centrales complejos y llegar a influir sobre la salida motora. La corteza está formada por múltiples células nerviosas, tiene un grosor de dos milímetros y recubre al cerebro, en esta estructura se forman muchas cisuras, una de ellas es la cisura central o cisura de Rolando (permite diferenciar al cerebro en dos partes: una anterior y otra posterior). La porción anterior se divide habitualmente en una región precentral y otra frontal, es en la primera donde se lleva a cabo el control motor o de los movimientos. En la corteza histológicamente es común observar seis capas celulares desde la superficie hasta la profundidad, recordando que esta división se hace principalmente en términos de la apariencia del cuerpo celular y de su distribución (Fig. 14), estas son:

- A.
  - 1) capa molecular.
  - 2) capa granular externa.
  - 3) capa de las pirámides medianas.
  - 4) capa granular interna.
  - 5) capa ganglionar o de las pirámides grandes.
  - 6) capa de las células fusiformes.
  
- B.
  - 1) línea exterior de Baillarger.
  - 2) línea interior de Baillarger.

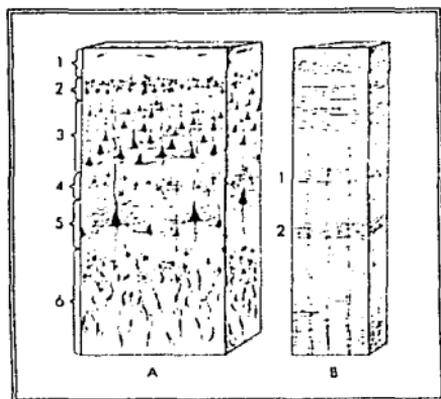


Figura 14. Histología de la corteza cerebral (Tomado de Barr, 1974).  
Leyendas: A. método de Golgi, B. método de Weigert.

Al parecer, las células piramidales de la capa cinco, son mucho más grandes en la región de la corteza motora (llamadas células piramidales gigantes o células de Betz) y envían sus axones hacia la médula espinal, en cuyo lugar ejercen su influencia sobre las motoneuronas que controlan la actividad muscular (Thompson, 1982).

Fritsch y Hitzig (1870) demostraron que la estimulación de la porción anterior de la corteza cerebral del perro producía movimientos musculares del lado opuesto del cuerpo. Inmediatamente por delante del surco central se encuentra el gyrus precentral (circunvolución frontal ascendente) el cual constituye el área motora (áreas corticales), la estimulación eléctrica de ésta zona desencadena el movimiento del lado opuesto del cuerpo (cita en Thompson, 1982).

Los tipos de movimientos que se producen por estimulación eléctrica de la corteza motora "primaria" son organizados, pero no puede obtenerse la misma respuesta cuando se estimula repetitivamente en un lugar dado de la corteza motora, implicando con esto que puede existir cierta plasticidad del control cortical del movimiento. De hecho, el tipo de movimiento provocado por estimulación, depende del estado de reposo de la extremidad estudiada además de la naturaleza del estímulo. Existen además áreas motoras complementarias que representan la musculatura corporal. La mayor parte de esta región

yace en la cisura interhemisférica dorsal y ligeramente anterior al área motora primaria; no funciona necesariamente a través de la corteza motora primaria, sino que tiene sus propias vías aferentes. La estimulación eléctrica del área premotora produce generalmente movimientos que afectan al cuerpo y a las extremidades y que son más complejos que los que se producen en el área motora primaria (Fullon, 1949). Gran parte del área premotora está incluida en la porción del campo motor primario que es capaz de producir movimientos de la musculatura corporal, además de las regiones de la representación de las extremidades anteriores y de la cara del área complementaria; el resto del área está incluida, en parte, en el campo motor complementario más una porción de las regiones motoras autónomas (Woolsey y cols., 1950). Experimentos realizados por Woolsey y cols. (1953) llegaron a la conclusión de que desde la corteza primaria somatosensorial surge un sistema de proyección eferente separado y que controla los movimientos. Por otro lado, en los cuarentas, se descubrió que al estimular eléctricamente ciertas regiones de la porción rastral de la corteza motora, se inhibían los movimientos iniciados por estimulación de las regiones más centrales del campo motor, llamándolas bandas supresoras las cuales promovían la presencia de depresión propagante con características de un decremento de la excitabilidad y vasodilatación, provocados casi por cualquier tipo de trauma o estimulación eléctrica intensa sobre la corteza (citadas en Green, 1969).

## 6. TECNICAS HISTOLOGICAS

### Método de Nissl.

#### Preparación de soluciones.

##### \* Solución amortiguadora

Acetato de sodio	0.32 g
Ac. acético glacial	0.09 ml
Agua destilada	45 ml

##### \* Solución base para tinte

Tionina	0.1 g
Agua destilada	10 ml

##### \* Solución de Ac. acético y formol

Ac. acético	0.5 ml
Formol 39%	0.5 ml
Agua destilada	50 ml

##### \* Solución de cloroformo

Cloroformo	40 ml
Eter	5 ml
Etol 96°	5 ml

##### \* Solución para tinte (A)

Solución amortiguadora	45 ml
Solución base para tinte	4.5 ml

##### \* Solución para tinte (B)

Cresil violeta	0.25 g
Agua destilada	100 ml
Ac. acético 10%	100 gotas

(A) Variante de Rucker-Koithan.

(B) Variante de Cresil-Violeta.

**Procedimiento.**

1. Colocar en etanol de 95° durante 5 minutos.
2. Pasar a la solución de cloroformo por 5 minutos.
3. Deshidratar en etanol de 95°.
4. Deshidratar en etanol de 100°.
5. Aclarar en xilol.
6. Deshidratar en etanol de 100°.
7. Deshidratar en etanol de 95°.
8. Hidratar con agua destilada.
9. Teñir con la solución para tinción (A o B) de 3 a 5 minutos.
10. Lavar con agua destilada.
11. Eliminar el exceso de tinción en la solución de ácido acético y formol.
12. Lavar con agua destilada.
13. Deshidratar en etanol de 95°.
14. Deshidratar en alcohol absoluto.
15. Aclarar en xilol.
16. Montar con bálsamo de Canadá o resina.

**Resultados.**

Cuerpos de Nissl	azul intenso
Núcleos	azul claro
Citoplasma y trasfondo	incoloro

Método de impregnación argéntica para neuroglia de Rio-Ortega.

**Preparación de soluciones.**

\* Carbonato lítico piridinado

Nitrato de plata al 10%	10 ml
Carbonato de litio	40 ml
Agua destilada	hasta completar 150 ml
Amoniaco	las gotas necesarias

Las soluciones de carbonato de litio y nitrato de plata se preparan por separado. Se mezclan las dos soluciones y se forma un precipitado que se disuelve con amoniaco, gota a gota, sin excederse de amoniaco, para asegurarse se deja un poquito de precipitado. Se añade agua destilada hasta completar 150 ml. Para usar agregar tres gotas de piridina por cada 10 ml de carbonato de plata.

\* Cloruro de oro al 1 x 500

Cloruro de oro amarillo	1.0 g
Agua destilada	500 ml

\* Hiposulfito de sodio al 5%

Hiposulfito de sodio	5 g
Agua destilada	100 ml

**Procedimiento.**

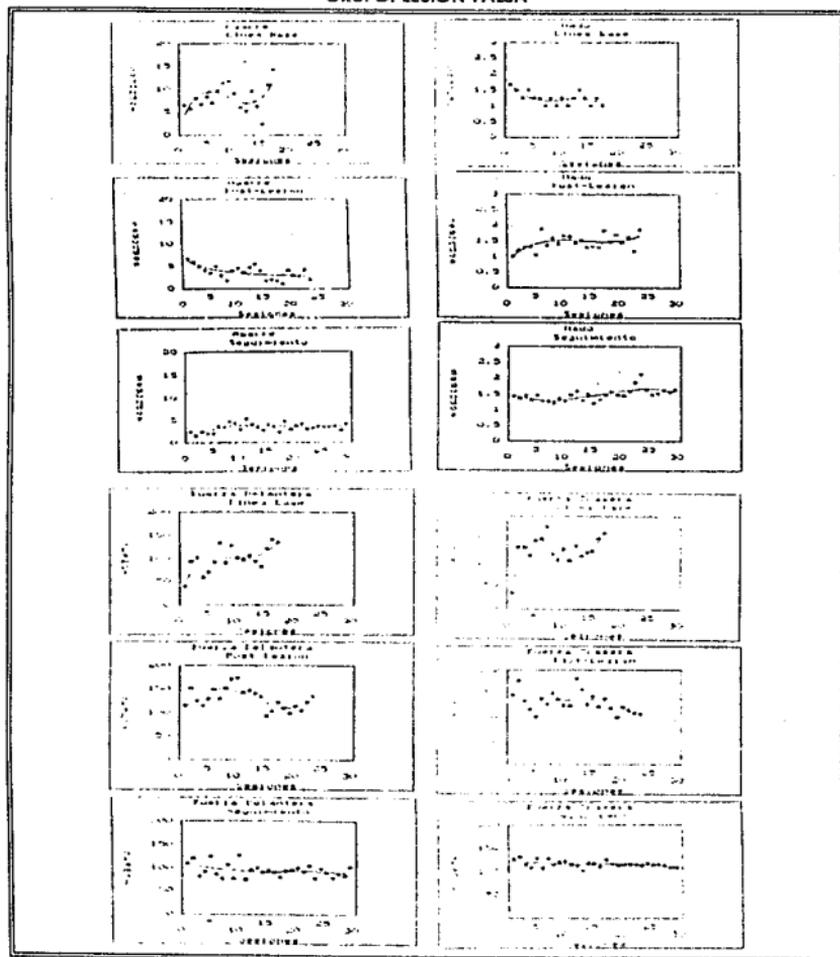
1. Lavar en agua destilada.
2. Hacer la impregnación en carbonato lítico piridinado, calentando suavemente hasta que los cortes adquieren color tabaco oscuro, aproximadamente de 40 a 60 minutos.
3. Lavar rápidamente en agua destilada.
4. Hacer la reducción en formal al 10%, durante 30 segundos.
5. Lavar en agua destilada.
6. Virar en cloruro de oro al 1 x 500, por 20 minutos a temperatura ambiente o hasta que los cortes tomen un color gris uniforme, reforzando en caliente, a 40°C, hasta que los cortes tomen un color violeta oscuro, aproximadamente 20 minutos.
7. Pasar los cortes a hiposulfito de sodio al 5% durante 5 minutos.
8. Lavar en agua destilada.
9. Deshidratar en alcohol de 96°.
10. Aclarar en xilol.
11. Cubrir con bálsamo de Canadá o resina.

**Resultados.**

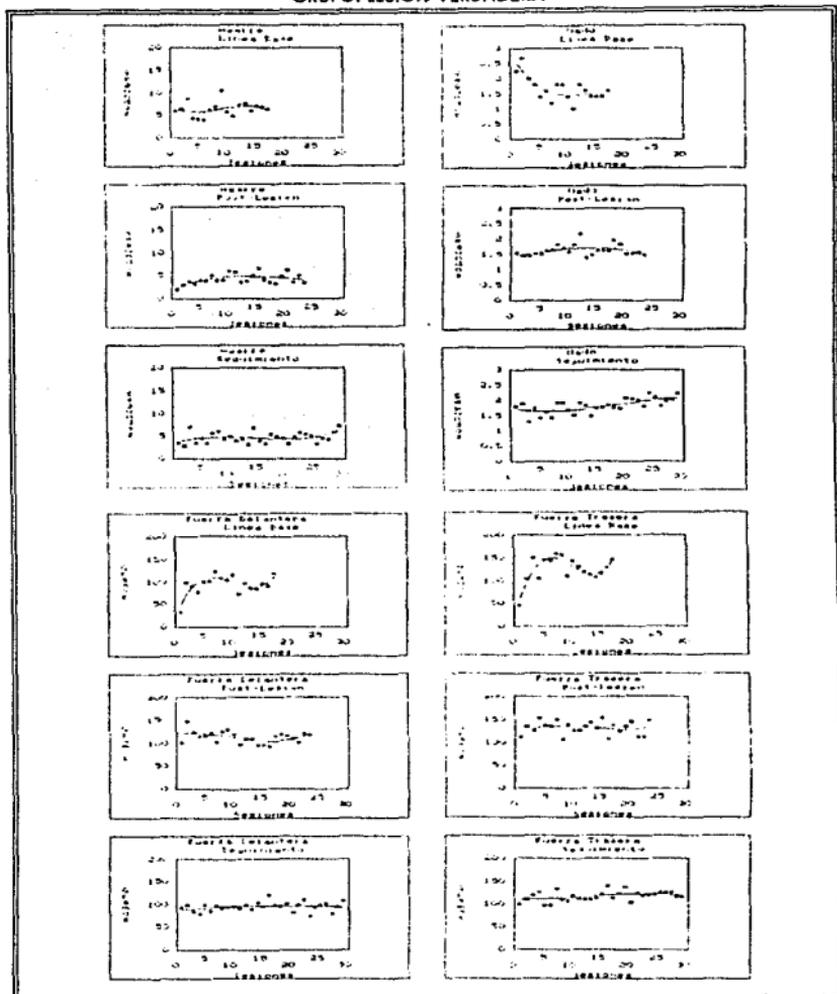
Neuroglia	Café tabaco o violáceo si fue virado
Fondo	Pardusco o violáceo si fue virado

7. DISTRIBUCION FUNCIONAL EN EL TIEMPO DE LOS REGISTROS EN LAS PRUEBAS DE AGARRE, NADO Y FUERZA

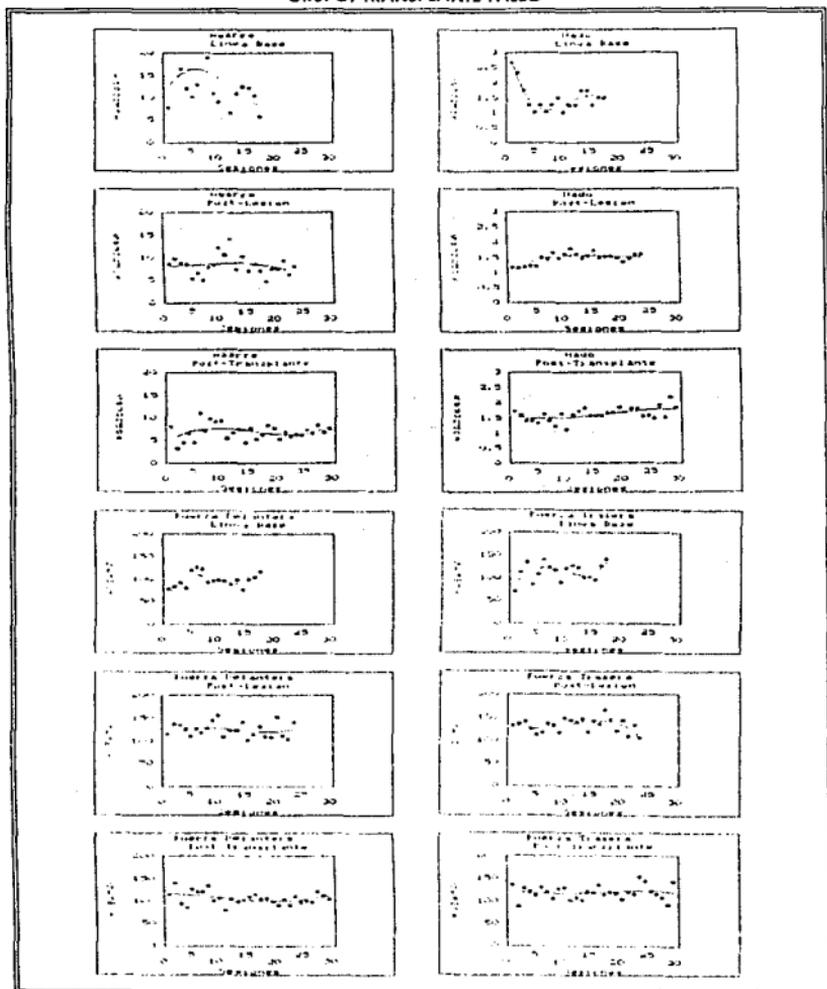
GRUPO: LESION FALSA



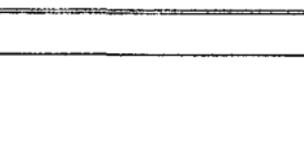
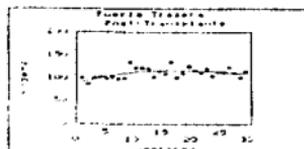
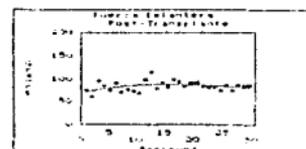
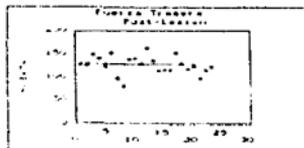
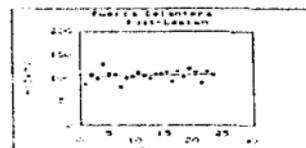
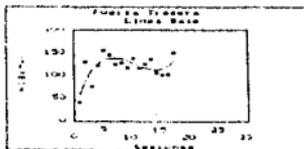
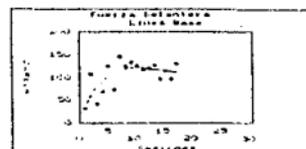
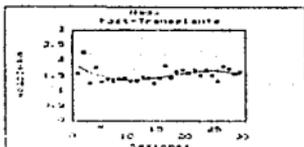
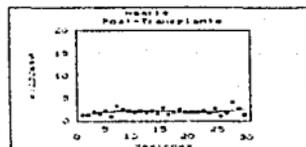
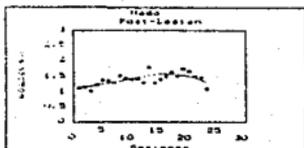
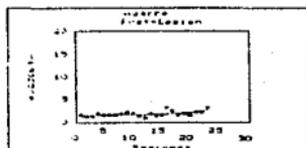
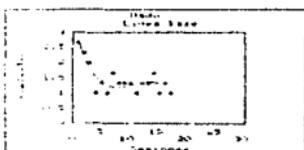
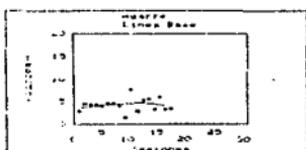
GRUPO: LESION VERDADERA



GRUPO: TRANSPLANTE FALSO



GRUPO: TRANSPLANTE VERDADERO



XIV. BIBLIOGRAFIA

- Aguilar, R.R. 1989. Estudios morfológicos y funcionales sobre trasplantes del núcleo supraquiasmático fetal. Tesis de Doctorado. México. Investigación Biomédica Básica. UNAM.
- Aguilar, R.R.; Mendoza, R.J.L. y R. Drucker C. 1991. Desarrollo y funcionalidad de los trasplantes de tejido nervioso. Ciencias. No. Esp. 5: 41-49.
- Bermúdez, R.F.; Fernández, M.A.; Sánchez, R.; Aguilar, R.R. y R. Drucker C. 1987. Fetal brain transplants induce recuperation of taste aversion learning. Brain Res. 416: 147-152.
- Bach-y-Rita, P. 1980. Brain Plasticity as basis for therapeutic procedures. In Bach-y-Rita. Ed. Recovery of Function: Theoretical Considerations for Brain Injury Rehabilitation. Viena Hans Huber. 225-263.
- Baldwin, J.M. & Poulton, E.B. 1902. Plasticity. In J.M. Baldwin (Ed.), Dictionary of Philosophy and Psychology (Vol. 2). New York: Peter Smith.
- Barr, M.L. 1974. The Human Nervous System. Harper & Row. USA. 408 pp.
- Björklund A.; Stenevi U.; Dunnett, S.B. & S.D. Iversen. 1981. Functional reactivation of the deafferented neostriatum by nigral transplants. Nature. 289: 497-499.
- Björklund A. & U. Stenevi. 1984. Intracerebral neural implants: Neuronal replacement and reconstruction of damaged circuitries. Ann. Rev. Neurosciences. 7: 279-308.
- BMDP Data Manager Manual. 1990. Los Angeles: BMDP Statistical Software, Inc. 893 pp.
- Brown, M.C.; Holland, R.L. & W.G. Hopkins. 1981. Motor nerve sprouting. Ann. Rev. Neurosci. 4: 17-42.
- Bucy, P.C.; Keplinger, J.E. & E.B. Siqueira. 1964. Destruction of the "Pyramidal Tract" in Man. J. Neurosurg. 21: 385-398.
- Brundin, P.; Isacson, O. & A. Björklund. 1985. Monitoring of cell viability in suspensions of embryonic CNS tissue and its use as a criterion for intracerebral graft survival. Brain Res. 331: 251-259
- Brundy, J.; Korein, J.; Grynbaum, K.L.; Friedman, L.W.; Weinstein, S.; Shachs-Frankel, G. & P.V. Belandars. 1976. EMG feedback therapy review of treatment of 114 patients. Arch. Physiol. Med. Rehab. 57: 55-61.
- Cailliet, R. 1982. El Hombre en la Hemiplejía. El Manual Moderno. México. 125 pp.
- Cardona, S.A. y R.C. Varela. 1985. Efectos de la restricción de movimiento sobre la hemiplejía experimental en ratas. Tesis de Licenciatura. México. Facultad de Psicología, UNAM.

- Coffey, P.J.; Perry, V.H. & N.P. Rawlins. 1990. An investigation into the early stages of the inflammatory response following ibotenic acid-induced neuronal degeneration. Neurosci. 35(1): 121-132.
- Connor, J.R.; Diamond, M.C. & R.E. Johnson. 1980. Occipital cortical morphology of the rat, alterations with age an environment. Exp. Neurol. 68: 158-170.
- Connor, J.R.; Diamond, M.C.; Connor, J.A. & R.E. Johnson. 1981a. A Golgi study of dendritic morphology in the occipital cortex of socially reared aged rats. Exp. Neurol. 73: 525-533.
- Connor, J.R.; Melone, J.H.; Yuen, A.R. & M.C. Diamond. 1981b. Dendritic length in aged rats's occipital cortex and environmentally induced response. Exp. Neurol. 73: 827-830.
- Cormack, D.H. 1988. Histología de Ham. Harla. México. 892 pp.
- Corral, V.V. 1984. Influencias ambientales en la administración de sustancias psicotrópicas y en la química cerebral. Tesis de Maestría. México. Facultad de Psicología, UNAM.
- Colman, C.W. & M. Nieto-Sampedro. 1982. Brain function, synapse renewal and plasticity. Ann. Rev. of Psychol. 33: 371-401.
- Colman, C.W. & M. Nieto-Sampedro. 1984. Cell biology of synaptic plasticity. Science. 225: 1287-1293.
- Colman, C.W. & K.J. Anderson. 1989. Neural Plasticity and Regeneration. In G. Selgel, B. Agranoff, R.W. Alberts and P. Molinoff (Eds.). Basic Neurochemistry. Raven Press. New York. 507-522.
- Crutcher, K.A. & F. Collins. 1982. In vitro evidence for two distinct hippocampal growth factors: Basis of neural plasticity?. Science. 217: 67-68.
- deGroot, J. & J.G. Chusid. 1989. Neuroanatomía Correlativa. El Manual Moderno. México. 446 pp.
- Drucker, C.R.; Aguilar, R.R.; García, H.F.; Fernández, C.F. y F. Bermúdez R. 1984. Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: Diurnal rhythm recovery of lesioned rats. Brain Res. 311: 353-357.
- Dunnett, S.B.; Low, W.C.; Iversen, D.; Stenevi, U. & A. Bjorklund. 1982a. Septal transplants restore maze learning rats with fimbria lesions. Brain Res. 251: 335-348.
- Dunnett, S.B.; Gage, F.H.; Björklund, A.; Stenevi, U.; Low, W.C. & S.D. Iversen. 1982b. Hippocampal deafferentation: Transplant-derived innervation and functional recovery. Scandinavian Journal of Psychology. 1: 104-111.
- Dunnett, S.B.; Whishaw, I.Q.; Bunch, S.T. & A. Fine. 1986. Acetylcholine-rich neuronal grafts in forebrain of rats: Effects of environmental enrichment neonatal noradrenaline depletion, host transplantation site and regional source of embryonic donor cells on graft size and acetylcholinesterase-positive fibre outgrowth. Brain Res. 378: 357-373.

- Dunnell, S.B. y A. Björklund. 1987a. Injertos en el cerebro. Mundo Científico. 7(69): 511-523.
- Dunnell, S.B.; Ryan, C.N.; Levin, P.D.; Reynolds, M. & S.T. Bunch. 1987b. Functional consequences of embryonic neocortex transplanted to rats with prefrontal cortex lesions. Behav. Neurosc. 101(4): 489-503.
- Ebendal, T.; Olson, L.; Seliger, A. & K.O. Hedlund. 1980. Nerve growth factors in the rat iris. Nature. 286: 25-28.
- Estrada, F.E.; Peralla, Z.L. y P. Rivas M. 1982. Manual de Técnicas Histológicas. AGT. México. 140 pp.
- Ferchmin, P.A. & V.A. Eterovic. 1980. Four hour of enriched experience are sufficient to increase cortical weight of rats. Soc. Neurosc. Abs. 6: 857.
- Fernández, R.J. 1987. Transplantes de tejido cerebral inducen recuperación del condicionamiento aversivo a los sabores en ratas. Tesis de Licenciatura. México. Investigación Biomédica Básica. UNAM.
- Fishbach, G.D. 1972. Synapse formation between dissociated nerve and muscle cells in low density cultures. Develop. Biol. 28: 407-429.
- Freed, W.J. 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. Biol. Psy. 18(11): 1205-1267.
- Gimeno, A.A. 1962. Síndromes Cerebrales de Origen Vascular. Alhambra. Madrid. 145-160 pp.
- Green, H.J. 1969. Manual de Fisiología Humana. Marín. Barcelona. 332-371 pp.
- Green, E.J.; Greenough, W.T. & B.E. Schlumpf. 1983. Effects of complex or isolated environments on cortical dendrites of middle-aged rats. Brain Res. 264: 233-240.
- Greenough, W.T. & E.J. Green. 1981. Experience and the changing brain. In J.L. McGaugh, J.G. March & S.B. Kiesler (Eds.), Ageing: Biology and Behavior. New York: Academic Press. 183.
- Goldstein, G.W. & A.L. Betz. 1986. The blood-brain barrier. Sci. Am. 254: 74-83.
- Gollin, E.S. 1981. Development and plasticity. In E.S. Gollin (Ed.), Developmental Plasticity: Behavioral and Biological Aspects of Variations in Development. New York: Academic Press.
- Herman, R. M.; Grillner, S.; Stein, P. S. G. y Stuart, D. G. 1976. Neural Control of Locomotion. Plenum Press. USA.
- Hruska, R.E.; Schwarcz, R.; Coyle, J.T. & H.I. Yamamura. 1978. Alterations of muscarinic cholinergic receptors in the rat striatum after kainic acid injections. Brain Res. 152: 620-625.

- Juraska, J.M.; Greenough, W.T.; Elliot C.; Mack, K.J. & R. Berkowitz. 1980. Plasticity in adult rat visual cortex: An examination of several cell populations after differential rearing. Behav. Neural Biol. 29: 157-167.
- Kaplan, M.S. 1988. Plasticity after brain lesions: Contemporary concepts. Arch. Phys. Med. Rehabil. 69: 984-990.
- Kerlinger, F.N. 1988. Investigación del Comportamiento. McGraw Hill. México. 748 pp.
- Kimelberg, H.K & M.D. Norenberg. 1989. Astrocytes. Sci. Am. 260(4): 44-52.
- Kolata, G. 1982. Graft correct brain damage. Science. 217(23): 342-344.
- Koib, B. & I.Q. Whishaw. 1986. Fundamentos de Neuropsicología Humana. Labor. Barcelona. 715 pp.
- König, J.F. & R.M. Klippel. 1968. The Rat Brain. A Stereotaxic Atlas of the Forebrain and Lower Parts of the Brain Stem. Baltimore. Williams & Wilkins. 168 pp.
- Konorski, J. 1948. Conditioned Reflexed and Neuron Organization. London Cambridge Univ. Press.
- Kromer, L.F. & A. Björklund. 1979. Embryonic neural transplants provide model system for studying development and regeneration in the mammalian CNS. Multidisciplinary Approach to Brain Res. Benedetta Editors. 409-428.
- Kromer, L.F.; Björklund, A. & U. Stenevi. 1980. Innervation of embryonic hippocampal implants by regenerating axons of cholinergic neurons in the adult rat. Brain Res. 210: 153-171.
- Lerner, M.R. 1984. On the Nature of Human Plasticity. Cambridge University Press. USA. 62-70 pp.
- Lescudron, L. & D.G. Stein. 1990. Functional recovery following transplants of embryonic brain tissue in rats with lesions of visual, frontal and motor cortex: Problems and prospects for future research. Neuropsychologia. 28(6): 585-599.
- Lethuillier, A. 1987. La neuroleucina: ¿ Mensajero nervioso o inmunitario ? Mundo Científico. 7(69): 544-546.
- Levi-Montalcini, R. & P. Calissano. 1979. The nerve-growth factor. Sci. Am. 240(6): 68-77.
- Lindsay, R.M. 1986. Reactive gliosis. In S. Fedoroff and A. Vernadakis (Eds.). Astrocytes cell biology and pathology of astrocytes. Academic Press. 3: 231-262.
- Low, C.W.; Lewis, P.R.; Bunch, S.T.; Dunnett, S.B.; Thomas, S.R.; Iversen, S.B.; Björklund, A. & U. Stenevi. 1982. Function recovery following neural transplantation of embryonic septal nuclei in adult rats with septohippocampal lesions. Nature. 300: 260-262.
- Low, C.W.; Lewis, P.R. & S.T. Bunch. 1983. Embryonic neural transplants across a major histocompatibility barrier: Survival an specificity of innervation. Brain Res. 262: 328-333.

- Luria, R.A. 1974. El Cerebro en Acción (I). Orbis. Barcelona. 221 pp.
- Manthorpe, M.; Nieto-Sampedro, M.; Skaper, S.D.; Lewis, E.R.; Barbin, G.; Longo, F.M.; Cotman, C.W. & S. Varon. 1983. Neurotrophic activity in brain wounds of the developing rat. Correlation with implants survival in the wound cavity. Brain Res. 267: 47-56.
- Marx, J.L. 1982. Transplants as guides to brain development. Science. 217(23): 340-342.
- Milner, T.A. & Loy, R. 1980. A delayed sprouting response to partial hippocampal deafferentation: Time course of sympathetic ingrowth following fimbrial lesions. Brain Res. 197: 391-399.
- Miranda, R.M. 1985. Efectos de la deficiencia proteica sobre la recuperación de funciones perdidas por el daño cerebral motor. Tesis de Licenciatura. México. Facultad de Psicología, UNAM.
- Mullenix, P.; Norton, S. & B. Cuiver. 1975. Locomotor damage in rats after X-irradiation in utero. Exp. Neurol. 48: 310-324.
- Murphy, M.R.; Maclean, P.D. & S.C. Hamilton. 1981. Species-typical behavior of hamsters deprived from birth of the neocortex. Science. 213: 459-461.
- Nieto-Sampedro, M.; Lewis, E.L.; Cotman, C.W.; Manthorpe, M.; Skaper, S.D.; Barbin, G.; Longo, F.M. & S. Varon. 1982. Brain injury causes a time-dependent increase in neurotrophic activity at the lesion site. Science. 217(27): 860-861.
- Nieto-Sampedro, M. & C.W. Cotman. 1985. Synaptic Plasticity. New York: Guilford Press. 407-455 pp.
- Nilsson, O.G.; Brundin, P.; Widner, H.; Sirecker, R.E. & A. Björklund. 1988. Human fetal basal forebrain neurons grafted to the denervated rat hippocampus produce an organotypic cholinergic reinnervation pattern. Brain Res. 456: 193-198.
- Palacios, V.J.J.; Corral, V.; Miranda, R. y R. Varela. 1981. Modelos experimentales de daño cerebral. Acta Psicol. Mex. 1: 25-42.
- Palacios, V.J.J.; Corral, V.V.; Pérez, R.B.; Cardona, S.A. y M. Miranda R. 1987a. Consideraciones teórico prácticas para la investigación en el área del daño cerebral. Acta Psicol. Mex. 3(1): 45-54.
- Palacios, V.J.J. 1987b. Medición de las secuelas de la hemiparesia experimental. Tesis de Maestría. México. Facultad de Psicología, UNAM.
- Palacios, V.J.J.; Escalante, M.C.; González, P.R. y R. Márquez R. 1989. Transplantes intracerebrales con suspensiones de tejido cerebral embrionario en estado de disociación en ratas con hemiplejía experimental. En Memorias del II Congreso Nacional Estudiantil de Investigación en el Área de la Salud. Facultad de Medicina, UNAM (Eds.). México. 215 pp.

- Pearlson, G.D. & R.G. Robinson. 1981. Suctions lesions of the frontal cerebral cortex in the rat induce asymmetrical behavioral and catecholaminergic responses. Brain Res. 218: 233-242.
- Pellegrino, L.J. & A.J. Cushman. 1963. A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain. Allan Memorial Institute. McGill, Montreal.
- Perlow, M.J. & W.J. Freed. 1979. Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. Science. 204(11): 643-646.
- Pezzoli, G.; Fahn, S.; Dwork, A.; Truong, D.D.; Yebenes, J.G.; Jackson, L.V.; Herbert, J. & J.L. Cadef. 1988. Non-chromaffin tissue plus nerve growth factor reduces experimental parkinsonism in aged rats. Brain Res. 459: 398-403.
- Ramón-y-Cajal S. y F. De Castro. 1972. Elementos de Técnica Micrográfica del Sistema Nervioso. Salvat, Barcelona. 230 pp.
- Reier, P.J. 1986. Gliosis following CNS injury: The anatomy of astrocytic scars and their influences on axonal elongation. In S. Fedoroff and A. Vernadakis (Eds.). Astrocytes cell biology and pathology of astrocytes. Academic Press. 3: 263-324.
- Rosenzweig, M.R.; Bennett, E.L. & M.C. Diamond. 1972. Brain changes in response to experience. Am. Sci. 226(2): 22-29.
- Rosenzweig, M.R.; Bennett, E.L. & M. Herbert. 1978. Social grouping cannot account for cerebral effect of enriched environment. Brain Res. 153: 563-576.
- Rosenzweig, M.R. 1980. Animal models for effects of brain lesions and for rehabilitation. In P. Bach-y-Rita (Ed.), Recovery of Function: Theoretical Considerations for Brain Injury Rehabilitation. Viena Hans Huber.
- Rosenzweig, M.R. 1984. Experience, memory and the brain. Am. Psychol. 39: 365-376.
- Scheff, S.W.; Bemardo, L.S. & C.W. Cotman. 1978. Decrease in adrenergic axon sprouting in the senescent rat. Science. 202: 775-778.
- Schmidt, R.H.; Bjorklund, A. & U. Stenevi. 1981. Intracerebral grafting or dissociate CNS tissue suspensions: A new approach for neural transplantation to deep brain sites. Brain Res. 218: 347-356.
- Shepherd, G.M. 1985. Neurobiología. Labor. Barcelona. 609 pp.
- Sigman, M. 1982. Plasticity in development: Implications for intervention. In L.A. Bond & J.M. Joffe (Eds.), Facilitating Infant and Early Childhood Development. Hanover, N.H.: University Press of New England.
- Skinner, J.E. 1975. Neurociencia. Manual de Laboratorio. Trillas. México. 264 pp.
- Solano, F.G. 1984. El pantógrafo analógico en el registro continuo de la conducta. Rev. Mex. Anal. Cond. 10(2): 193-202.

- Steel, R.G.D. y J.H. Torrie. 1989. Bioestadística. Principios y Procedimientos. Mc Graw-Hill. México. 622 pp.
- Stenevi, U.; Björklund, A. & N. Svendgaard. 1976. Transplantation of central and peripheral monoamine neurons to the adult rat brain: Techniques and conditions for survival. Brain Res. 114: 1-20.
- Svendgaard, N.; Björklund, A. & U. Stenevi. 1975. Regeneration of central cholinergic neurones in the adult rat brain. Brain Res. 102: 1-22.
- Thompson, F.R. 1982. Fundamentos de Psicología Fisiológica. Trillas. México. 805 pp.
- Tsukahara, N. 1981. Synaptic plasticity in the mammalian central nervous system. Ann. Rev. Neurosci. 4: 351-379.
- Tze, W.J. & J. Tai. 1984. Intracerebral allotransplantation of purified pancreatic endocrine cells and pancreatic islets in diabetic rats. Transplantation. 38(2): 107-111.
- Uylings, H.B.M.; Kuypers, K.; Diamond, M.C. & W.A.M. Veltman. 1978a. Effects of differential environments on plasticity of dendrites of cortical pyramidal neurons in adult rats. Exp. Neurol. 62: 658-677.
- Uylings, H.B.M.; Kuypers, K. & W.A.M. Veltman. 1978b. Environmental influences in the neocortex in later life. Progress in Brain Res. 48: 261-272.
- Venable, N.; Fernández, V.; Díaz, E. & H.T. Pinto. 1989. Effects of preweaning environmental enrichment on basilar dendrites of pyramidal neurons in occipital cortex: A Golgi study. Dev. Brain Res. 49(1): 140-144.
- Volkmar, F.R. & W.T. Grønough. 1972. Rearing complexity affects branching of dendrites in the visual cortex of the rat. Science. 176: 1445-1447.
- Wallace, R.B. & G.D. Das. 1982. Behavioral effects of CNS transplants in the rat. Brain Res. 243: 133-139.
- Walley, J.; Nauta, H. & M. Feirtag. 1987. Fundamentos de Neuroanatomía. Labor. Barcelona. 91-103 pp.
- Wessells, N.K. 1980. Responses to cells contacts between growth cones, neurites and ganglionic non-neuronal cells. J. Neurocytol. 9: 647-664.