



40
2ej

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

Caracterización Conductual y Anatómica de la
Recuperación Funcional Pasiva y la Inducida
por Transplantes de Tejido Neural Embrionario
en Ratas con Hemiplejía Experimental mante-
nidas en Ambiente Enriquecido.

T E S I S

Que para obtener el Grado de

B I O L O G O

P r e s e n t a n

Custodio Ramírez Verónica y
González Piña Rigoberto

Asesor: Dr. Jorge Julián Palacios Venegas

INVESTIGACION PSICOBIOLOGICA BASICA

México D. F. Marzo. 1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

INDICE

I. RESUMEN	1
II. TRANSPLANTES INTRACEREBRALES.	
A) Aspectos históricos de los trasplantes intracerebrales.	3
B) Condiciones para la sobrevivencia del injerto de Tejido Neural Fetal Intracerebral	5
C) Aspectos morfológicos de los trasplantes.	8
D) Recuperación funcional inducida por trasplantes intracerebrales	9
E) Aspectos Inmunológicos de los Trasplantes Intracerebrales	13
III. PLASTICIDAD CEREBRAL.	
A) Aspectos históricos de la Plasticidad Cerebral. Concepto.	17
B) Evidencias de la Plasticidad Cerebral.	18
C) Mecanismos plásticos involucrados en la recuperación funcional después del daño cerebral	19
IV. EFECTOS DEL AMBIENTE SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO.	
A) Sobre el cerebro intacto.	27
B) Sobre el cerebro dañado.	31
V. EL MODELO DE HEMIPLEJIA EXPERIMENTAL.	
A) Etiología.	33
B) Desarrollo del modelo y su uso en la investigación básica.	33
VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	36
VII. OBJETIVOS.	37
VIII. HIPOTESIS.	38

IX. MATERIALES Y METODO.	39
X. RESULTADOS.	
A) Análisis de los datos.	49
B) Análisis histológico.	70
XI. DISCUSION.	77
XII. CONCLUSIONES.	81
XIII. APENDICE.	
1. Calculo del ángulo del paso.	82
2. Protocolo de cirugías.	83
3. Método de disociación según Fishback (1972) y descrito por Schmidt y cols. (1981)	84
4. Técnica de perfusión cardíaca.	84
5. Técnica de inclusión en parafina.	85
XIV. REFERENCIAS.	86

I. RESUMEN.

En el presente trabajo se pretendió caracterizar conductual y anatómicamente la Recuperación pasiva (RP) y la inducida por trasplantes de Tejido Neural Embrionario (TTNE) en condiciones de Ambiente Enriquecido (AR). Se utilizaron 25 ratas machos de 2 a 4 meses de edad de la cepa Wistar, las cuales se mantuvieron en condiciones de AR, que consistió en tener a los animales juntos en una jaula de amplias dimensiones provista de juguetes estimulantes para el movimiento (columpios, balancines, pelotas, etc...); las ratas fueron distribuidas al azar en cinco grupos de cinco individuos cada uno de la siguiente manera: Control (C), Lesión Falsa (LF), Recuperación Pasiva (RP), Trasplante Falso (TF) y Trasplante Verdadero (TV). Para la medición de los efectos de las condiciones experimentales, se empleó una batería de pruebas que consistió en: Análisis de la Huella de la Marcha de la Rata (AHMR), Nado, Agarre y Fuerza de las extremidades. La experimentación inició con la fase de Moldeamiento a la batería, seguida por la toma de registros de Línea Base (LB), pasada ésta, el grupo LF se sometió a una cirugía de lesión, introduciendo una cánula estéril en la Capsula Interna (CI) sin succionar el tejido. A los grupos RP, TF y TV se les provocó una lesión verdadera en la misma región mediante una succión del parénquima cerebral; continuando con la toma de registros Post-Lesión (PL). Posteriormente, mediante una segunda cirugía, el grupo TF recibió 10 µl de solución Ringer, mientras que el grupo TV recibió 10 µl de TNE disociado; continuándose con la toma de registros Post-Transplante (PT). Los sujetos experimentales que no recibieron esta cirugía se dejaron evolucionar sin tratamiento alguno, salvo el registro continuo con la batería de prueba. Al grupo C únicamente se le tomaron registros durante los tres periodos sin ninguna intervención quirúrgica. Por último, los sujetos se sacrificaron mediante perfusión cardíaca y se obtuvo el cerebro, el cual fue analizado histológicamente mediante las técnicas de Hematoxilina-eosina (HE) y Hematoxilina fosfotúngstica (HF). Los resultados obtenidos muestran que los animales lograron recuperarse después de la lesión intracraneal, de acuerdo al Análisis de Regresión Polinomial (ANREPO). El largo del paso disminuyó en todos los grupos, el ancho del paso tuvo cambios ligeros con tendencia a incrementarse, y el ángulo del paso también se incrementó. La prueba de Nado no demostró cambios y las pruebas de Agarre y de Fuerza de las extremidades se excluyeron del análisis por presentarse los datos poco consistentes al ser analizados. Los animales lesionados presentaron evidencia de recuperación funcional, no obstante que no recibieron un trasplante. Los animales portadores de trasplante de TNE también mostraron una tendencia a la recuperación, sin embargo, el análisis histológico no demostró evidencia alguna de sobrevivencia del injerto. Se concluyó, entre otras cosas, que los cambios observados tanto después del daño como durante la recuperación son de tipo cualitativo en condiciones de ambiente

enriquecido y que la introducción de una cánula en la CI sin succionar el tejido tiene efectos similares a los de la lesión con succión.

II. TRANSPLANTES INTRACEREBRALES.

A) Aspectos históricos de los transplantes intracerebrales.

El injerto neural surgió en la década pasada con un punto de vista viable para el estudio de la regeneración de conexiones neurales en el Sistema Nervioso Central (SNC) de mamíferos. Un aspecto particular de esta técnica es el uso de implantes neurales intracerebrales para el establecimiento de grandes conexiones, la sustitución de vias neurales perdidas, y el reemplazamiento de tejido defectuoso en el SNC de mamíferos adultos (Björklund y Stenevi, 1984). La técnica del Injerto de Tejido Neural al SNC de mamíferos ha sido practicada frecuentemente desde fines del siglo pasado, pero los resultados fueron en general muy pobres. Thompson (1890) y Saltykow (1905) fueron posiblemente los primeros en reportar resultados de injertos de tejido del SNC adulto, y Del Conte (1907) el primero en intentar injertos de tejido embrionario al cerebro de mamíferos, y concluyó que el cerebro era un sitio desfavorable para recibir transplantes. Resultados negativos similares fueron publicados, por ejemplo, por Altobelli (1914); Glee, (1955); y Frotscher y cols. (1970). En cambio, Ranson (1914), obtuvo sobrevivencia parcial de los ganglios sensoriales injertados en la corteza cerebral de ratas en desarrollo, y Dunn (1917) reportó sobrevivencia en 4 de 44 injertos de corteza cerebral neonatal, implantando en el cortex de ratas de la misma camada de 9 a 10 días de nacidas.

Durante la pasada década, los hallazgos han proporcionado gran información: se conoce que todas las partes del neuroeje pueden ser transplantadas con excelente sobrevivencia, no solo en el SNC de animales en desarrollo, sino también en el cerebro y el cordón espinal del adulto ó en receptores de la misma edad. Técnicamente, la principal restricción es que los injertos de tejido del SNC hayan sido tomados de donadores en desarrollo (embrionario ó neonatal). En los vertebrados más primitivos, como los urodelos (salamandras y ajolotes) y peces, el transplante, reimplante ó transposición de tejido de SNC es también posible en individuos adultos. La razón de ésto, parece ser, en el caso de urodelos, que los elementos neurales completamente diferenciados, los cuales no sobreviven al injerto, pueden ser reemplazados nuevamente por formaciones de neuronas en regeneración de células neuroepiteliales no diferenciadas (Stone y Zaur, 1940; Gaze y Watson, 1968). En vertebrados superiores hay una clara diferencia entre neuronas ganglionares periféricas, las cuales sobreviven parcialmente en injertos de donadores extraños (Stenevi y cols., 1976; Björklund y Stenevi, 1977a), y neuronas del SNC, las cuales sobreviven al injerto solo cuando son tomadas de donadores embrionarios ó en desarrollo.

Stenevi y cols.(1976) y Björklund y cols.(1976) fueron los primeros en estudiar más sistemáticamente la sobrevivencia de injertos de neuronas centrales y periféricas en el SNC del mamífero adulto. En vertebrados submamíferos, se ha usado un enfoque clásico en el estudio de los

mecanismos de regeneración neural, especialmente en el sistema retino-tectal. Matthey (1926), Stone (1944). Stone y Zaur (1940) y Sperry (1945), en particular, demostraron que los ojos transplantados ó reimplantados pueden regenerar una nueva vía retino-tectal, con restauración de la visión, en ajolotes adultos y salamandras ó en ranas posmetamórficas jóvenes. En estos injertos de ojos de adultos ó adultos jóvenes, las células ganglionares retinales inicialmente se regeneran, pero subsiguientemente lo hacen por proliferación celular del margen ciliar. Además, se ha demostrado que los injertos oculares de 2 a 3 meses demostraron generar una nueva conexión retino-tectal, y estudios con injertos alternos ó contrarios innervados, indican que el nuevo camino retino-tectal, establece una proyección ordenada topográficamente sobre el tectum contralateral (Stone, 1944, 1963; Sperry, 1945). Stone y Farthing (1942) reportaron que el mismo ojo podía ser injertado hasta cuatro veces con recuperación de la visión en cada uno de los huéspedes nuevos.

La técnica del injerto neural se logró aplicándola al tectum óptico de la carpa dorada adulta y en ranas postmetamórficas jóvenes (Sharma y Gaze, 1971; Levine y Jacobson, 1974; Jacobson y Levine, 1975a,b). Estos estudios demostraron que el tejido tectal adulto o postembrionario sobrevive al reimplante o transposición en el cerebro de los mismos individuos. Estos injertos llegan a ser reinervados por la regeneración de axones retino-tectales del huésped, y en muchos casos las nuevas aferencias han sido observadas por ser organizadas de una manera topográfica normal de acuerdo a la polaridad original del injerto (Levine y Jacobson, 1974).

Otro ejemplo de injerto funcionalmente logrado en vertebrados submamíferos, de gran tradición, es el transplante de segmentos del cordón espinal en anfibios en desarrollo y polluelos (Detwiler, 1936; Piatt, 1940; Székely, 1963, 1968; Straznický, 1963). Tales injertos establecen sus propias conexiones neuromusculares y pueden proporcionar movimientos normales coordinados en sus miembros. Székely (1963, 1968) observó que los segmentos del cordón espinal en desarrollo aislados como tales, en posición ectópica, retienen su patrón motor. Los segmentos de cordón espinal, injertados al mismo tiempo con un miembro desarrollado no sólo fueron reinervando a los músculos del miembro injertado, sino que se observaron movimientos coordinados parecidos al caminar normal, ambos hallazgos fueron observados espontáneamente o en respuesta a choques eléctricos en el área alrededor del injerto. Esta capacidad del cordón injertado para inducir movimientos coordinados fué específica en el sentido de que ha sido con segmentos tomados de la porción branquial del cordón, normalmente, innervando el miembro anterior, pero no con segmentos tomados del cordón torácico, el cual normalmente no controla movimientos de los miembros.

B) Condiciones para la sobrevivencia del injerto de Tejido Neural Fetal intracerebral.

Las condiciones necesarias para la viabilidad del injerto de Tejido Neural Fetal (TNF) fueron identificadas en 1970, y son las siguientes: las neuronas a injertarse deben ser células embrionarias y es necesario asegurar al tejido injertado un entorno nutritivo para su desarrollo.

1) La primera condición tiene las siguientes ventajas: el cerebro en desarrollo es una estructura extremadamente plástica. Aunque muchas regiones pueden estar bien conectadas, otras (como la corteza cerebral) están abiertas a diversas influencias, tanto intrínsecas como ambientales. La capacidad del cerebro para reorganizarse en respuesta a influencias externas o a una lesión localizada es actualmente una de las áreas en que más está trabajando la investigación neurobiológica, no sólo por la obvia importancia de fenómenos tales como el aprendizaje y la memoria, y por su influencia sobre la capacidad del cerebro para recuperarse después de la lesión, sino también debido a lo que probablemente se revele acerca de su desarrollo.

La lesión de una porción del Sistema Nervioso Central (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 y la importancia que tiene el sitio lesionado en la regulación de determinada función. Casi todas las alteraciones son irreversibles. El transplante de tejido cerebral con el fin de inducir recuperación morfológica y funcional del SNC fue intentado con poco éxito a lo largo de este siglo. Sin embargo, estudios recientes señalan que el procedimiento puede realizarse, cuando se usa tejido nervioso en desarrollo, o sea, un embrión como donador (López, 1986).

Una vez que las neuronas jóvenes pierden su capacidad de dividirse, empieza la migración neural, que parece ser del tipo ameboides en la mayoría de los casos. Las células que migran extienden un proceso conductor que se adhiere a algún sustrato apropiado; el núcleo fluye o es atraído hacia aquel, y entonces se retrae el que queda por detrás del somá. Es un procedimiento lento, siendo la tasa de migración promedio del orden de una décima de milímetro por día. Más tarde el cuerpo celular empieza a moverse cada vez más lejos de los primeros procesos, que permanecen básicamente donde se originaron. Maxwell (1980), cuando habla de los procesos, se refiere a las prolongaciones neuronales o a la guía que ocupa la neurona para su migración desde la zona ventricular hasta la zona cortical y que son prolongaciones de las células gliales radiales.

Se sabe que hay células gliales especializadas dentro del cerebro en desarrollo cuyos cuerpos celulares se sitúan dentro de la zona ventricular y cuyos procesos se extienden radialmente hacia la superficie. Como estas células aparecen en una fase precoz del desarrollo y persisten hasta cierto

tiempo después de haber cesado la migración neuronal, se ha sugerido que podrían proporcionar un andamio adecuado a lo largo del cual podrían desplazarse las neuronas migratorias.

La tendencia que tienen las células en desarrollo del mismo origen embrionario a adherirse selectivamente una con otra, es una característica más que facilitaría la integración del tejido transplantado al tejido huésped (TH). Cuando se disocian las células de dos o tres regiones del sistema nervioso en desarrollo (normalmente por medios mecánicos o por medio de un tratamiento químico suave), se mezclan conjuntamente y se deja que se agreguen de nuevo en un medio apropiado, tienden a ordenarse de manera que las células de cada región se agregan preferencialmente con otras células de la misma región. Esta adherencia selectiva parece ser una propiedad general de todas las células vivas y se debe probablemente a la aparición en sus superficies de clases específicas de grandes moléculas que sirven tanto para reconocer células del mismo tipo y unir las. Estas moléculas, que funcionan como enlaces, parecen ser altamente específicas para cada tipo principal de célula. Además parece que cambian en número y en distribución según avanza el desarrollo.

Uno de los rasgos más destacables en el desarrollo de las neuronas es la progresiva elaboración de sus procesos, pero éste es sólo un aspecto de su diferenciación. Igualmente importantes son la adquisición de un modo particular de transmisión (la mayoría de las neuronas generan potenciales de acción, aunque algunas presentan solamente transmisión decreciente) y la selección de uno u otro de dos modos de interacción con otras células: la formación de sinapsis convencionales para proporcionar la liberación de un transmisor químico, o bien la formación de uniones íntimas para proporcionar la interacción eléctrica de las células. Es también evidente, que durante el desarrollo normal del cerebro la mayoría de neuronas están sujetas a diversas influencias mecánicas locales que pueden modificar su forma. Es indudable que el número y distribución de los estímulos que las células reciben puede afectar críticamente su forma final. Dos características del crecimiento de los procesos nerviosos son: a) que la mayoría de las neuronas parecen generar muchos más procesos de los necesarios o de los que son capaces de mantener. De aquí que la mayoría de neuronas jóvenes estén dotadas de gran número de prolongaciones cortas del tipo de la dendrita, de las que todas, excepto unas pocas, se retraen más tarde al madurar la célula. De manera similar, parece que la mayoría de los axones en desarrollo establecen muchas más conexiones de las necesarias en el estado maduro, y comúnmente hay una fase de eliminación de las prolongaciones durante la cual son eliminadas muchas (y en algunos casos todas excepto una) de las conexiones del grupo inicial; b) existe una fuerte tendencia de los axones a crecer en estrecha asociación con sus vecinos, este fenómeno es conocido como fasciculación. Los trabajos recientes sugieren que la tendencia a fascicular puede estar asociada con la aparición de enlaces de

superficie a todo lo largo de la mayoría de los axones, que les capacitan para unirse y crecer con otros pertenecientes a un tipo similar (Maxwell, 1980).

Las neuronas establecen configuraciones específicas en sus conexiones. La mayoría de las neuronas (o más probablemente la mayoría de las pequeñas poblaciones de neuronas) se diferencian químicamente en una fase precoz de su desarrollo según las posiciones que ocupan, y este aspecto de su diferenciación se expresa en forma de marcadores distintivos que permiten a los axones neuronales reconocer a un marcador que hace juego a uno complementario, en la superficie de sus neuronas diana (Corey y Bastiani, 1985).

Los estudios sobre la innervación muscular indican que, bajo circunstancias normales, se originan por diferenciación pequeñas poblaciones de neuronas motoras llamadas núcleos de neuronas motoras, en una fase prematura del desarrollo y que cada núcleo de neuronas motoras inerva preferencialmente un músculo específico de la extremidad, produciéndose pocos errores en el proceso. Aunque la especificidad de la pauta de innervación suele ser precisa, no es absoluta. Por tanto, si una extremidad posterior supernumeraria de un embrión de pollo donante se transplanta al lado de la extremidad posterior normal de un embrión huésped, los músculos de la extremidad supernumeraria invariablemente resultan innervados por núcleos de neuronas motoras que normalmente innervan o bien partes de la musculatura del tronco o bien de la musculatura de la cintura de la extremidad. La pauta de innervación es claramente aberrante, pero el hecho de que los músculos de la extremidad trasplantada sean siempre innervados por la misma población de células sugiere que, incluso bajo estas condiciones poco corrientes, los axones de las neuronas motoras obedecen a ciertas reglas todavía no identificadas.

2) La otra condición de la sobrevivencia, está en asegurar al tejido injertado un entorno nutritivo para su desarrollo. Esto se logra colocando el implante en sitios con una vascularización importante y un acceso fácil del líquido cefalorraquídeo. Son muy pocos los lugares que reúnen estas condiciones: el borde de los ventrículos laterales, los ventrículos tercero y cuarto y la hendidura coroides cercana al hipocampo. Esto limita el campo experimental. Por tal motivo, se desarrolló el método de succión (Stenevi y cols., 1976; Møllgaard y cols., 1978); que consiste en hacer una cavidad en la zona donde se va a colocar el injerto. Después de un tiempo, en la lesión se forma una cubierta meningeal vascularizada que proporciona al tejido trasplantado los nutrientes necesarios y sin duda una acumulación local de factores de crecimiento. Esta técnica fue usada por vez primera en el cordón espinal, principalmente para injertos de nervio periférico (Sugar y Gerard, 1940; Kao y cols., 1970); posteriormente en áreas corticales del cerebro de ratas adultas (Stenevi y cols., 1976, 1980 a, b) y en transplantes en animales neonatos (Lewis y Cotman, 1980, 1983).

Björklund y cols. (1980a) y Schmidt y cols. (1981) desarrollaron un nuevo procedimiento de injerto que está basado en la inyección en el lugar deseado de suspensiones de células embrionarias. Este método presenta varias ventajas: Las neuronas pueden ser inyectadas en el cerebro no importa donde, son rápidamente integradas al tejido del huésped, y se establecen fácilmente relaciones con la circulación sanguínea. También permite que puedan ser implantados varios injertos de células diferentes, o unos mismos tipos de células en diferentes lugares.

La observación de éstas condiciones hace posible la supervivencia de un transplante en el cerebro huésped, y por tanto, la experimentación sistemática. Sin embargo, los mecanismos moleculares de diferenciación neuronal son poco conocidos. Esto ha hecho que la actitud adoptada en el estudio de los transplantes sea más bien empírica que teórica (Dunnett y Björklund, 1987).

C) Aspectos morfológicos de los transplantes.

S. K. McConnell, observó que el proceso del transplante *per se* no altera el destino de las neuronas corticales en términos de su morfología adulta y su posición laminar final (McConnell, 1985). Utilizando una metodología similar a la usada por McConnell, Jaeger y Lund (1980 a, b) propusieron que los transplantes de células corticales están compuestos de neuronas generadas antes y después del transplante. Esto es comprensible, si se considera que la rata, a los 14 días de gestación, tiene en su cerebro predominantemente células neuroepiteliales, que continúan multiplicándose en el huésped; no así, en el caso de tejido de SNC proveniente de fetos de 21 días de gestación, el cual está compuesto de neuroblastos que únicamente se diferencian al momento de ser injertados, sin multiplicarse más. Las células precursoras continúan en mitosis siguiendo un esquema similar al de la neurogénesis normal.

Kromer, Björklund y Stenevi (1983) transplantaron tres estructuras de diferente organización neuronal en cavidades previamente hechas en la corteza cerebral de ratas adultas para observar las características de crecimiento de dichos tejidos. De este estudio se lograron identificar algunos procesos pasivos que parecen ser siempre aplicables a la mayoría de los transplantes. Estos son:

- 1) Las células neuroepiteliales de las diversas regiones estudiadas continúan proliferando después de transplantarse al SNC, produciendo neuronas con características morfológicas normales.
- 2) Las células que se diferencian antes de que se realice el transplante son capaces de sobrevivir y mantener el arreglo citoarquitectónico original en su nuevo ambiente.

3) Las características de organización intrínseca y de organización tridimensional de las regiones transplantadas pueden desarrollarse aún en un sitio ectópico del SNC adulto.

La organización interna del trasplante puede ser afectada por una gran cantidad de variables, tales como: las variaciones debidas a la manipulación del tejido a transplantar, las variaciones de volumen de tejido que es implantado en el huésped, y además, quizá la variable más importante sea la edad de gestación del feto donador, que refleja el estado de diferenciación de la región que se va a transplantar.

En cuanto al estudio del establecimiento de interconexiones entre el tejido transplantado y el tejido del huésped, han sido llevados a cabo infinidad de trabajos (Bjorklund y Stenevi, 1984; Harvey y cols., 1981; Jaeger y Lund, 1980 a, b), en los cuales se ha encontrado que, si a los axones en crecimiento se les presenta la posibilidad de escoger entre diferentes campos terminales denervados, muestran una clara preferencia por las zonas denervadas con tipos de fibras homólogas.

D) Recuperación funcional inducida por los trasplantes intracerebrales.

Los reportes sobre la recuperación funcional inducida por los trasplantes de tejido de Sistema Nervioso Central (SNC) embrionario al cerebro adulto se han incrementado día con día, estudiándose desde diversos puntos de vista: electrofisiológicos (Lund y cols. 1985), bioquímicos (Bjorklund y cols., 1983; Dunnett y cols., 1985) y conductuales (Low y cols., 1982; Drucker y cols., 1984; Dunnett y cols., 1982 a, b).

Los estudios electrofisiológicos hechos por Lund y cols. (1985) demostraron que los trasplantes de retina responden bien a la luz. Se implantaron retinas fetales en el tectum óptico, y al estimularlas con luz, se encontró que 10 de 12 de ellas generaron potenciales de onda corta en sus conexiones con el tectum óptico, siendo la forma de la onda similar a la de un electroretinograma obtenido de un ojo normal.

Los estudios bioquímicos han demostrado también, recuperación en la actividad bioquímica de las áreas dañadas, después de efectuado el trasplante. Bjorklund y cols. (1983 a) implantaron neuronas fetales tomadas del área septal en hipocampus denervados previamente. A los 10 días de efectuado el trasplante, la actividad de la enzima colin-acetiltransferasa (CAT) fue apenas detectable en el trasplante, pero al menos se encontró un incremento significativo en la actividad de la CAT en el hipocampo adyacente al injerto, y a los seis meses la actividad de la CAT estaba restaurada a niveles cercanos a los normales.

Kelly y cols. (1985) llevaron a cabo estudios en los que se utilizó (14)-2-deoxiglucosa (2-DG), encontrando que seis meses después de haber lesionado unilateralmente la fimbria-fornix, hubo una gran disminución en el uso de 2-DG del hipocampo. Esto fue debido a un decremento en la actividad neuronal, que es consecuencia de la desafereenciación de terminales sinápticas. Las ratas que recibieron transplantes colinérgicos en el hipocampo mostraron un incremento significativo en el uso de 2-DG comparado con las ratas lesionadas. Los cambios en el uso de 2-DG fueron relacionados con la densidad de acetilcolinesterasa en cortes adyacentes a los de la medición de 2-DG de los mismos cerebros. Estos resultados muestran una correlación entre la innervación colinérgica de los transplantes septales y la restauración del consumo de glucosa. Se puede concluir entonces que las sinápsis que establecen los transplantes en éste caso, son sinápsis funcionales, que ejercen un efecto positivo sobre las neuronas hipocámpales del huésped.

Uno de los modelos bioquímicos más estudiados es el de la enfermedad de Parkinson, que se manifiesta por la degeneración de neuronas de la sustancia nigra, que a su vez produce la depleción de la dopamina en el cuerpo estriado. Se ha demostrado que tanto los transplantes de sustancia nigra como los de células cromafines de las glándulas suprarrenales, son capaces de producir un incremento significativo de los niveles de dopamina en el cuerpo estriado, llevándolos a niveles cercanos a los normales (Schmidt y cols. 1982, Björklund y cols. 1981). En un estudio hecho con éste modelo, la actividad metabólica del trasplante se muestra cerca de la actividad normal de la sustancia nigra in situ (Schmidt y cols., 1982). Este mismo modelo ha sido utilizado por Perlow y cols. (1979 a, b) para estudiar la recuperación conductual después del daño cerebral. Estos autores inyectaron 6-Hidroxidopamina (6-OHDA) en la sustancia nigra. Esta neurotoxina destruye a las neuronas dopaminérgicas, de manera que la destrucción de la vía nigroestriatal provoca una asimetría conductual. Si la rata es estimulada con amfetaminas, el animal comienza a girar hacia el lado de la lesión (rotación ipsilateral); si es estimulada con apomorfina, el giro será en dirección opuesta (rotación contralateral). Después de efectuada la lesión, se insertaron bloques de tejido nigral embrionario, mediante una cánula de acero, dentro del ventrículo lateral adyacente al estriado lesionado. Pasados tres meses, los investigadores registraron los giros contralaterales inducidos por apomorfina y observaron una disminución entre el 40 y el 50 %. Dunnett y Björklund (1987) han estudiado también este modelo y supusieron la existencia de un posible mecanismo de compensación que puede ser el responsable de la recuperación. Drucker y cols. (1984) realizaron estudios conductuales utilizando el modelo de ingesta de agua en la rata. El ritmo circadiano de la rata está ajustado para que presente mayor actividad nocturna que diurna, por lo que, tiende a beber más agua durante la noche. Los autores determinaron el ritmo del comportamiento de ingesta de agua antes de provocar una lesión en el núcleo supraquiasmático. Cinco

semanas después, se observó la pérdida total del ritmo. Se procedió entonces a transplantar hipotálamo anterior fetal colocándolo en el tercer ventrículo de las ratas lesionadas. Ocho semanas después del transplante, las ratas recobraron su ritmo de ingesta de agua.

Diversos estudios indican que los transplantes 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 ratas macho neonatas al interior de la misma área de ratas hembras de la misma camada) con resultados positivos; las hembras mostraron aumento de las conductas 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 con transplantes. Esta opinión se basa en los hechos de que ese tejido neural se obtiene aún durante el período prenatal, y se comporta como si se hubiera obtenido en estado fetal, 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 y de cerdo en ratón y no encontraron rechazo alguno del tejido (Low, Lewis y Bunch, 1983). Low y cols. en 1983, realizaron transplantes 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. (citados en Fernández, 1985) han sido los que más datos han aportado sobre las conexiones anatómicas y funcionales entre los transplantes y los tejidos hospederos con trabajos de desarrollo de injertos intraoculares en el sistema nervioso, al igual que Björklund y Stenevi (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 transplantes de tejido neocortical, hipocámpal y cerebelar. Los estudios electrofisiológicos indican que las fibras forman sinapsis funcionales, como lo indicaron Das en 1975, Lund y Hauschka en 1976 y Zimmer en 1978, quienes encontraron que el tejido de SNC adulto es capaz de regenerar axones e inervar tejido embrionario transplantado, formando un puente funcional (Kromer y Björklund, 1979).

En 1985 las evidencias experimentales disponibles indicaron la capacidad del Tejido Nervioso Fetal (TNF) de sobrevivir al ser transplantado en el SNC de receptores adultos. Los transplantes continuaron su diferenciación y establecieron conexiones morfológicas con el tejido hospedero, de igual manera los transplantes 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 nigro-estriatal (Freed y cols., 1984; Stromberg y cols., 1985), y el de administración sistemática de Metil-fenil-tetrahidropiridina (MPTP) (Bohn y cols., 1987). En estos trabajos, se pone en evidencia la capacidad de los transplantes (tanto de tejido nervioso como de células cromafines) para contrarrestar los trastornos motores asociados a las lesiones mencionadas. Backlund, 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 afirmaron las hipótesis iniciales respecto a su recuperación, pero establecieron la base respecto al uso de la técnica en humanos voluntarios. Dunnett, Whishaw, Bunch y Fine en 1986 lesionaron el Nucleus Basalis Magnocellularis (NBM) de ratas adultas produciendo déficits en la memoria, aprendizaje y en el sistema sensoriomotor produciendo síntomas análogos a la demencia senil (enfermedad de Alzheimer, en humanos), al inyectarles tejido embrionario rico en acetilcolina en la zona lesionada, los animales recuperaron gran parte de sus funciones perdidas provocadas por la lesión la cual inicializa 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, Se reportó que el trasplante autólogo de médula suprarrenal en dos pacientes parkinsonianos revertió en forma significativa su sintomatología. Posteriormente, el mismo grupo reportó resultados similares en otras ocho personas.

Pezzoli y cols. en 1988, reportaron que en conjunción con la 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 sustancia nigra con 6-hidroxidopamina. 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-Sampedro y cols. en 1982, al hacer una cavidad en el cerebro (corteza entorrinal) en desarrollo de ratas adultas, y colocar una pequeña pieza de gel absorbente dentro de esa cavidad para colectar el fluido secretado. Estos investigadores notaron que la recuperación de la lesión, con el trasplante

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. En 1945, Raúl May al publicar una serie de artículos referentes a la viabilidad de los transplantes de TNF, reportó la existencia de procesos de reinervación por la posible inducción de factores tróficos (Aguilar y cols., 1991).

Nilsson y cols. (1988) en sus experimentos utilizaron tejido fetal humano del área de la Banda Septal Diagonal (BSD) producto de un aborto espontáneo, el tejido fue injertado en la formación hipocámpal de ratas inmunosupresivas adultas, después de la lesión por succión en la fimbria fornix; 19 semanas después de la cirugía en la que se colocó el 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 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.

E) Aspectos Inmunológicos de los Transplantes Intracerebrales.

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. 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 al cerebro como un "sitio inmunológicamente privilegiado" (Barker y Billingham, 1977, Raju y Grogan, 1977), ya que normalmente alberga muy pocas células del sistema inmunitario (linfocitos y macrófagos), debido a que éstas no atraviesan fácilmente la barrera hematoencefálica, y por tanto los transplantes escapan al rechazo (Bjorklund y cols, 1982). Probablemente las células nerviosas expresan en su superficie muy pocos antígenos de histocompatibilidad, con la consiguiente evitación del rechazo del injerto. Se ha realizado con éxito el trasplante de tejido nervioso entre animales de diferentes camadas e incluso de diferentes especies. El injerto entre sujetos de diferentes especies, ha sido menos exitoso. Se han reportado periodos máximos

de sobrevivencia de 6 meses (Low y cols, 1982; Bragin y Vinogradova, 1981). Por ejemplo, en 1986, con los trabajos del grupo de N. le Douarin, ha quedado claro que los injertos de tejido nervioso codorniz-pollo pueden producir más enfermedades degenerativas del tejido nervioso, ligadas a un problema de naturaleza inmunológica (Dunnet y Björklund, 1987). El tratamiento con inmunosupresores incrementa la supervivencia del transplante, como lo han demostrado los estudios en que se administra ciclosporina-A a ratas que reciben transplantes de corteza cerebral de ratón (Inoue y cols., 1985).

Se desconoce la razón por la cual el cerebro es un sitio inmunológicamente privilegiado. Se ha sugerido que pudieran intervenir los siguientes factores en dicho fenómeno :

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

Su participación no es fundamental. Todas las técnicas de transplantes que se usan actualmente implican una lesión de la barrera hematoencefálica. 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 sujeto 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 (Dunnett y cols., 1987).

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 TNF, que aun 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

ejercida por los macrófagos y los linfocitos hacia el tejido transplantado al producir una lesión intracraneal por medio de la introducción de una cánula (Pearlson y Robinson, 1981).

III. PLASTICIDAD CEREBRAL.

A través de las décadas, los científicos de todo el mundo han estudiado el curso de los procesos psicológicos y psicofisiológicos: 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 subyacen a estos procesos. Sin embargo, aun en la actualidad se desconocen numerosas procesos básicos en los que se apoyan dichas funciones y son desconocidos también la mayoría de los procesos que se ponen en marcha cuando en partes individuales del cerebro, ocurren perturbaciones por accidentes o son destruidas por enfermedad y que inducen la recuperación funcional. Es por esto que el cerebro, principalmente el de humano, ha llegado a ser considerado como un sistema funcional altamente complejo y de estructura única que representa un problema muy difícil de resolver. Por todo lo anterior, para poder conocer los principios que rigen las interacciones intrínsecas (relaciones entre los componentes del mismo Sistema Nervioso) 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 del organismo. Por ejemplo, las células de la piel están cambiando constantemente y el hígado puede regenerar la mayor parte de sus células. 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 los invertebrados como en los vertebrados, en que una vez completados los procesos de desarrollo la generación de nuevas células nerviosas es mínima o nula. Esta, 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 llevan a cabo distintos procesos plásticos en los organismos según su nivel ontogenético durante su desarrollo. Las distintas especies difieren en la forma en como responden a su medio, de tal manera que su comportamiento también lo es. Si a todo esto sumamos la pérdida de alguna función por el 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, este puede ser recuperado por medio de respuestas morfológicas y fisiológicas ante el daño", posteriormente el mismo Bach-y-Rita junto con Rosenzweig en 1980 postularon que "La recuperación de funciones

perdidas por el daño cerebral, incluye el restablecimiento de una función, a la vez que su incremento produce cambios en algún nivel del Sistema Nervioso Central (SNC).

A) Aspectos históricos de la Plasticidad Cerebral. Concepto.

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

Sin embargo, hasta principios de este siglo, la investigación dedicada al conocimiento del funcionamiento del cerebro era fundamentalmente localizacionista. Un discípulo de Shepard Ivory Franz, inspirado en los trabajos de Broadman, inició la búsqueda de un cambio anatómico, responsable de un proceso conductual o cognitivo. Este investigador era Karl S. Lashley, cuya obra se ubica entre 1914 y 1960. El inicio de sus trabajos tiene una primera publicación representativa, donde se reportan los resultados de un experimento hecho con ratas en el que se entrenó a los animales para resolver laberintos en base a la adquisición de patrones de discriminación de brillantez de las paredes de éstos. Cuando los sujetos ya habían aprendido, se procedía a practicarles una lesión en las áreas visuales (Lashley, 1917; citado por Palacios, 1987). Después de practicada esta, se procedía a evaluar los efectos del daño sobre la ejecución de la tarea aprendida. Los resultados indicaron que no sólo no se afectaba totalmente la ejecución de la tarea, sino que en poco tiempo ésta era readquirida. Contrariamente a lo que podría esperar de acuerdo a la orientación de sus trabajos, Lashley encontró que había readquisición y reorganización de la función. Su obra "En busca del engrama", publicada en 1950, no obstante de que se trata de una obra eminentemente localizacionista, la fundamenta un concepto muy plástico, ya que el cambio que será responsable del aprendizaje o de la memoria es, precisamente, un cambio en la función del SNC, y se trata de un cambio anatómico, químico y fisiológico (Palacios, 1987).

En los años treinta y cuarentas, la discusión del término plasticidad se limitó en el origen y en el papel de la evolución.

- 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.
- 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 posibles rangos de variación en el fenotipo que pueden ocurrir en el desarrollo de un individuo.

- Kolata (1982) señaló que la PC se lleva a cabo mediante interacciones nerviosas intrínsecas y extrínsecas de tal modo que el cerebro se proporcione así mismo la posibilidad de recuperar las funciones perdidas que han sido provocadas por el daño que no rebasa al umbral de la imposibilidad de respuesta ante sí mismo, llegando así al conocimiento de poder determinar las posibilidades de recuperación en cierto grado, además de poder inducir esta mediante el empleo de sistemas terapéuticos, concluyendo que no solo el cerebro retiene la mínima capacidad de desarrollo y cambios a través de la vida, sino mantiene la capacidad de restaurarse un espacio dañado.
- Sigman (1982) describió el concepto de PC como la capacidad que presentan los organismos de modificarse por la acción del medio ambiente.
- Nieto (1982) consideró que el término plasticidad se refiere a la capacidad del SN para cambiar en respuesta a presiones ambientales, lesiones o modificaciones en el estado interno del organismo.
- Lerner (1984) se refirió al término plasticidad como los procesos por los cuales se desarrolla una capacidad para modificar una conducta y ajustarla a las demandas ambientales.

La ambigüedad de las definiciones y conceptos sobre la plasticidad y en particular de la PC por el momento, reflejan la falta de conocimiento de la mayoría de los procesos que rigen al fenómeno.

B) Evidencias de la Plasticidad Cerebral.

A la fecha, son muchas las evidencias que indican la recuperación de funciones que han sido perdidas después del daño cerebral. Los trabajos ya mencionados de Lashley (1917) son un ejemplo. En estudios mucho más recientes, Miller y cols. (1976) encontraron que lesiones cerebrales en monos interfieren en el control del movimiento, produciéndoles temblor. Se observó que durante la recuperación, algunas funciones que dependen fundamentalmente de la corteza sensorial, se ven involucradas en el proceso, observándose que la posición de los miembros adquiría una gran importancia y era fundamental en la recuperación, principalmente para minimizar el temblor.

En el Laboratorio de Plasticidad Cerebral de la Facultad de Psicología, UNAM se han encontrado evidencias de la recuperación de funciones perdidas por el daño cerebral. Trabajando con el modelo experimental de hemiparesia, Miranda (1986), y Cardona y Varela (1985) encontraron que las secuelas del daño del 80% de las fibras de la Capsula Interna (CI) de la rata, remite aproximadamente en tres meses, que es un periodo de tiempo igual al 10% de la vida de la rata. Este tipo de recuperación ha sido definida en términos de Recuperación Pasiva (Palacios, 1987). Tal parece que esta recuperación se ve asociada a un incremento paulatino de la actividad del sujeto después de la lesión.

Si la actividad es interrumpida y los animales son mantenidos en restricción de movimiento, las secuelas hemiparéticas se acentúan y pueden hasta volverse irreversibles (Cardona y Varela, 1985).

En el caso de pacientes humanos, existe un buen número de casos que pueden ejemplificar la recuperación funcional pasiva. Moore (1980) cita el caso de un paciente que quedó cuadrapléjico después de un Accidente Vascular Cerebral (AVC), y que fué trasladado a una cabaña en las montañas para que pasara un periodo de tranquilidad. Ahí el paciente se empezó a arrastrar por el piso rehusándose a ser tratado como un inválido y más adelante se dedicó a trabajar en el jardín de la cabaña. Tiempo después recuperó el movimiento, de tal forma que de arrastrarse pudo caminar erguido con el apoyo de un bastón. Brodal, en 1973, reportó los efectos de la terapia de recuperación que él mismo se administró después de un AVC, encontrando que es posible recuperarse. Basmajian (1974) trató pacientes con alteraciones neuromusculares, por medio de terapias de retroalimentación biológica, encontrando que después de varias sesiones eran capaces de controlar voluntariamente las funciones originalmente afectadas.

En el Laboratorio de Plasticidad Cerebral de la Facultad de Psicología de la UNAM también han sido tratados pacientes con alteraciones neuromusculares, que en su mayoría han tenido secuelas de accidentes vasculares. Mediante la aplicación de la Retroalimentación Biológica, una paciente de 78 años que sufría de hemiplejía tuvo una recuperación importante después de tres semanas de tratamiento. De la misma forma, un paciente hemipléjico de 56 años de edad que había sufrido un Accidente Vascular Cerebral (AVC) recuperó sus movimientos después del mismo tipo de entrenamiento.

Estas y muchas evidencias más (Bach-y-Rita, 1980; Balliet y Bach-y-Rita, 1981; Brudny, 1976, por solo mencionar algunas) parecen indicar que la recuperación de funciones perdidas por el daño cerebral, es un factor que bien podría ser aprovechado en el caso de las funciones neuromusculares, en términos de rehabilitación, si además es reforzado con la aplicación de los métodos utilizados en los modelos experimentales.

C). Mecanismos plásticos involucrados en la recuperación funcional después del daño cerebral.

Existen diferentes teorías que tratan de explicar el fenómeno de recuperación de funciones. Una de ellas es la teoría de la equipotencialidad o de la acción en masa. Se postula que la responsable de la deficiencia funcional o alteración es la cantidad de tejido removido, de la misma manera es la responsable de la manifestación permanente o temporal de ésta incapacidad; siendo independiente de la zona y función afectada (Lashley, 1938).

Desde el punto de vista anatómico, existen algunos procesos que bien podrían explicar el fenómeno de la Plasticidad Cerebral. Uno de ellos es el retoño regenerativo que fué reportado por Cajal en 1928 en el Sistema Nervioso Periférico. Raisman (1973) demostró la regeneración de axones en células nerviosas adultas estudiando el septum del cerebro de la rata. El septum recibe dos tipos de flujo nervioso; uno circula a lo largo de la fimbria, que son las aferencias provenientes del hipocampo; y el otro circula en el haz mediano anterior. Raisman observó que cuando seccionaba uno u otro haces, las células del septum dejaban de recibir los influjos nerviosos vehiculados por el haz cortado. Unas semanas después observó que las sinapsis que habían dejado de ser funcionales a causa de la sección, estaban ocupadas ahora por unas prolongaciones emitidas por las células del haz que había permanecido intacto. Esto revela que algunas neuronas cerebrales de un mamífero adulto son capaces de reconstituir nuevas conexiones tras la lesión. Pero aun no se sabe con certeza si a este crecimiento de nuevos axones cabe un cometido cierto en la recuperación funcional pasiva.

En otros trabajos, llevados a cabo por Stricker y Zigmond (1976), se demostró la existencia de otro proceso inherente a la recuperación. Estudiando las dificultades para beber y para comer de ratas con lesión en el hipotálamo lateral o en la vía nigrostriatal, encontraron que la recuperación no se basa en una región en particular, sino que demostraron que en este caso se produce gracias a modificaciones bioquímicas importantes de algunas fibras nerviosas dejadas a salvo (ya que una pérdida del 100% de las fibras es imposible de lograr mediante cirugía) y de sus objetivos en el cuerpo estriado. Las pocas neuronas que quedan intactas aumentan entonces la frecuencia de su influjo, aumentan la síntesis de su neurotransmisor, e incrementan también la cantidad de neurotransmisor liberada sobre el objetivo a cada descarga de influjo nervioso. Se añade a esta actividad bioquímica el hecho de que en las células receptoras del cuerpo estriado aparece una hipersensibilidad al neurotransmisor, en este caso la dopamina, ya que hace falta mucho menos cantidad para excitar a la membrana.

Dunnett y Björklund (1987) en sus estudios hechos con el modelo de la enfermedad de Parkinson, hallaron que los transplantes hechos en el locus niger del cerebro de la rata, presentan una proyección de fibras bastante pobre, inferior a la observada en el sistema intacto. Pero la recuperación funcional de los animales es total en la prueba de rotación. Al hacer el análisis bioquímico, los autores encontraron los mismos resultados que habían hallado Stricker y Zigmond (1975). A partir de éstos resultados, los autores sugieren la existencia de un mecanismo de compensación que podría tener lugar en el cerebro después de efectuada una lesión y que las células injertadas podrían ser el asiento de los cambios bioquímicos ya mencionados. Esto no es exclusivo de la rata, se observan modificaciones importantes durante la evolución de la enfermedad de Parkinson en el hombre. Los síntomas de la enfermedad no se hacen evidentes más que cuando el cerebro del enfermo ha perdido alrededor del

70% de las neuronas en cuestión. Hasta entonces, las modificaciones bioquímicas de las fibras supervivientes y de las células objetivo han compensado casi completamente las pérdidas.

Sin embargo, existen infinidad de enfermedades neurológicas que no pueden recuperarse espontáneamente. La lesión de los circuitos que unen al septum con el hipocampo produce detrimentos permanentes en la memoria y el aprendizaje de la rata. En el hombre, la enfermedad de Alzheimer no es paliada por modificaciones bioquímicas de las células intactas ni por sus objetivos. Esto implica que quizá algunos tipos de lesiones cerebrales son irreversibles, mientras que otras pueden ser fácilmente recuperadas; o bien, que el mecanismo de compensación involucrado es disparado por factores no bien conocidos aún.

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 éste puede tener la capacidad de regenerar sus circuitos, ya que los circuitos sinápticos que se forman con las expansiones de otras neuronas están sujetos a esa modificación continua. El estímulo puede ser una perturbación, como lo es un trauma o una alteración metabólica, o uno más sutil, como lo es el aprendizaje de una nueva tarea o conducta, así como un injerto de tejido neuronal embrionario (Cotman, 1989). De tal manera que los estudios de PC pueden ser clasificados dentro de dos categorías generales: [1] Estudios que adoptan el "método de lesión experimental" con la investigación de los efectos de lesiones cerebrales en el SN de los organismos, y la recuperación en el SN desde una condición "patológica" inducida experimentalmente. (Cotman y Nieto, 1982); y [2] Los estudios que evalúan los efectos de la experiencia en el SN, en donde "la experiencia puede ser la aplicación de estimulación eléctrica en una o más porciones del SN o puede involucrar un mejoramiento en el medio ambiente físico y/o manipulaciones medio ambientales sociales, Grenough y Green, 1981 (Lerner, 1984) y recientemente los estudios de la recuperación de ciertos procesos cognoscitivos mediante los trasplantes de tejido cerebral fetal (Bermúdez y cols., 1987; Aguilar, 1991). Para intentar explicar el proceso de recuperación se proponen dos mecanismos plásticos importantes: brote axónico y renovación de sinapsis:

I. Brote axónico.

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 del terminal presináptico; los colaterales surgen como una nueva rama del axón,

independiente de otras terminaciones nerviosas que hubiera ya. Cuando el brote colateral se origina en un 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 axon seccionado se denomina regenerativo (Nieto, 1985; Cotman, 1989). En algunas ocasiones este término suele confundirse con el de regeneración, sin embargo, éste es una variante del brote axonico distinguiéndose en que la regeneración es un proceso por el cual las neuronas lesionadas por un traumatismo hacen volver a crecer conexiones hacia el área que inervaban previamente (Kolb y cols., 1986). 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 además porque la cicatrización puede bloquear el nuevo crecimiento.

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

Las conexiones neuromusculares del mamífero adulto se pueden regenerar después de que el nervio ha sido seccionado. Los extremos de los axones cortados experimentan una transformación en conos de crecimiento y se abren camino hacia el músculo denervado. Allí forman una 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 papel importante en la regeneración de las conexiones neuromusculares después de que se han destruido algunas de las células nerviosas, 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 sobrevivientes 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 el Factor de Crecimiento Nervioso (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, 1979).

La identificación química del FCN, como la primera de las múltiples sustancias que han de ser descubiertas y que probablemente han de regular el desarrollo neuronal, ha 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 sinapsis en algunas partes del SNP, estamos aún lejos de este objetivo en el SNC (Ebendal y cols., 1980).

II. Renovación de sinapsis.

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

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

La renovación de sinapsis en el SN 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 evocada 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 SN. En 1979 Phys y Weiss colocaron ratones adultos durante 17 días en condiciones de Ambiente Rico (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 ambiente pobre. 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 (Cotman 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 (denferentación) 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 y alcanza su máximo desarrollo entre los 15 y 20 días, 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 hipocámpal, otras regiones del SNC también poseen la capacidad para la renovación de las sinapsis después de una denervación parcial. Las mismas reglas básicas que gobiernan a la plasticidad en la formación hipocámpal se aplican a áreas tales como el núcleo septal y la fimbria-fornix. En el núcleo septal lateral, una transección fimbrial provoca sinaptogénesis reactiva, sin embargo, la pérdida de aferentes es reemplazada preferentemente de manera homeotípica por fibras de la fimbria contralateral. Con una transección fimbrial bilateral, las sinapsis en el septum son reemplazadas posiblemente por un proceso heterotípico, pues es aún desconocida la fuente de las

aferencias. Si la fimbria-fornix o el cerebro medio anterior 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 demuestran 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, de tamaño notable reciben dos tipos de aferencias muy distintas. Las aferencias de la corteza motosensorial terminan en la porción distal del árbol dendrítico; las provenientes del cerebelo 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 del cerebelo y la corteza motora normalmente tienen una distribución distinta a lo largo de las neuronas: las aferentes cerebelares terminan en el soma y las dendritas proximales; las sinapsis de las aferentes corticales en las dendritas distales. Después de una lesión en las vías cerebelar-rubral, tanto las medidas electrofisiológicas 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 reestablecida en el núcleo rojo, mostrando propiedades consistentes con las nuevas sinapsis adyacentes (proximales) en el soma. Un efecto similar se produce en respuesta al condicionamiento clásico de la flexión en función de 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. Es necesario enfatizar que estos mecanismos ocurren naturalmente, y las intervenciones que provocan la regeneración toman lugar de nuevo un antecedente del crecimiento reactivo (Cotman y Anderson, 1989).

Así, Scheff, Benardo 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 solamente bajo ciertas condiciones después de haber sido seccionadas selectivamente" (Björklund y Stenevi, 1976; citados por Crutcher y Collins, 1982). Cotman y Scheff (1979) concluyeron que la extensión de las proyecciones comisurales y las conexiones después de

provocar lesiones en la corteza entorinal de ratas viejas y jóvenes, fueron significativamente menores en el grupo de ratas mas viejas. Bregman y Goldberger (1982; citados en Miranda, 1985) encontraron 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 una degeneración retrograda masiva. Sin embargo, ninguno de estos cambios ocurrieron en los gatos adultos.

Venable y cols. (1989) reportaron que la estimulación positiva en ratas antes de nacer y en neonatas, incrementa los segmentos dendríticos tanto en número como en longitud sugiriendo estos resultados que el cerebro dendrítico es más flexible y plastico, mientras mas joven sea el individuo, pues a medida que este envejece los resultados se manifiestan de manera mas pobre.

La formación o la eliminación de una sinapsis es un acontecimiento cuyas consecuencias pueden perdurar durante toda la vida. Además, el ejemplo de la union neuromuscular demuestra que la formación de sinapsis puede estar regulada por la actividad electrica. Aunque los estudios del SNC son mucho más difíciles, existen razones para creer que también se pueden aplicar a él principios similares. Tanto en el SNC como en el SNP, parece que el patrón de conexiones sinápticas es plástico: la experiencia puede ir moldeando, 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 está generalmente admitido que la memoria depende de los cambios sinápticos, aún no queda claro 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 mas 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).

IV. EFECTOS DEL AMBIENTE SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO.

A) Sobre el cerebro intacto.

Los estudios sobre el uso de ambientes enriquecidos producen cambios considerables en el Sistema Nervioso Central (SNC), esto ha sido observado desde hace algunos años. 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.

Probablemente, el primer científico en cuantificar cambios en el cerebro como resultado de la experiencia fue Michele Gaetano Malacarne 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 periodo, 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 enfermeras, 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 se debían a las diferencias en el entrenamiento o la experiencia. Al comienzo del siglo XX los investigadores no pudieron demostrar 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 (RNA y DNA) de las células nerviosas (Rosenzweig, 1972).

Mark R. Rosenzweig (1972), ha realizado estudios sobre los efectos que el ambiente que rodea al sujeto ejerce sobre el SNC. Para esto, se consideraron tres tipos de ambientes: Rico (AR), Estandar (AE) y Pobre (AP). La diferencia entre cada uno de éstos está en la cantidad de estimulación de la actividad que recibe el sujeto. El autor propone que ésto es muy subjetivo y así entonces siempre se puede clasificar el ambiente con respecto a un medio de estimulación dado, el cual se consideraría como AE. En éste caso, trabajando con ratas, el AR consistió en una gran jaula metálica de dimensiones amplias con diferentes objetos en su interior para que los animales jugaran con ellos:

ruedas de actividad, balancines y escaleras; siendo cambiados cada día a razón de cinco objetos hasta obtener un total de 25. El AE se constituyó con cajas de bioterio normales que alojaban tres ratas cada una. Finalmente, el AP consistió en cajas metálicas oscurecidas con muy poca estimulación.

Los sujetos permanecieron en sus condiciones respectivas durante 120 días y posteriormente fueron sacrificados. Al hacer el análisis histológico, así como el bioquímico, se encontraron cambios en el peso del cerebro, siendo mayor en los animales que permanecieron en AR, con una variación del 4 al 10 % mayor y más evidente en la corteza occipital. Se encontraron también cambios en la cantidad de acetilcolinesterasa (ACHE) y en la de colinesterasa (ACH), con un incremento en la ACHE y un decremento en la ACH, además de un incremento en el tejido glial. Se reporta también un incremento en el número de espinas dendríticas en la corteza cerebral, los cuerpos celulares y los núcleos fueron significativamente mayores, lo que indica mayor metabolismo; hubo un incremento también en el tamaño de las dendritas basales; existió también un mayor número de espinas dendríticas por unidad de espacio, tanto de basales como oblicuas, pero no así para las apicales. Todo ésto en los individuos que permanecieron en AR y en la comparación con los de AP.

En un estudio posterior, se halló una mayor densidad y extensión sinápticas entre las neuronas, además de encontrarse diferencias significativas en las mediciones de ARN y ADN entre ratas mantenidas en AR, AE y AP, siendo mayor la cantidad de éstas moléculas en el primer grupo (Bennett y Rosenzweig, 1979; Greenough, 1976).

Continuando con esta línea de investigación, Volkmar y Greenough (1972) cuantificaron el porcentaje de material dendrítico en las neuronas piramidales de la corteza visual de sujetos colocados en AR, y en aquellos colocados en AP; en los sujetos 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 (Kaplan, 1988).

En 1984, Rosenzweig identificó 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 sujetos jóvenes (aproximadamente 25 días de edad en la rata), debido a que él consideraba que el cerebro era más plástico en las ratas jóvenes que en las viejas. Posteriormente tomó en cuenta sujetos 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, desarrollándose 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 periodos de una hora de exposición a AR fueron suficientes para incrementar significativamente el peso de la corteza occipital en ratas jóvenes. Posteriormente establecieron que periodos de 10 minutos, durante cuatro días consecutivos de exposición a AR causaron un incremento considerable tanto en el peso como en el contenido de RNA en la corteza de ratas jóvenes, pero que estos periodos fueron poco efectivos en ratas de 90 días de edad.

Uylings y cols. (1978 a, b) colocaron ratas de 112 días de edad en condiciones de AR y AE durante 30 días; el análisis de los sujetos 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) después de colocar a ratas de 145 días de edad en condiciones de AR y AE durante 84 días. Ellos observaron que tanto los brazos apicales oblicuos como las dendritas basales terminales de la capa III de neuronas piramidales de la corteza occipital fueron significativamente más largas en los sujetos expuestos a AR, así como un incremento significativo en el número de dendritas de primer orden de la capa IV.

Floeter y Greenough concluyeron en 1979, después de colocar monos jóvenes en ambientes aislado, restrictivo y social, que el cerebro en el mono adulto experimentó cambios debidos a la influencia del ambiente enriquecido y/o especial.

En 1979, Glick y Bondareff, al comparar ratas de tres meses de edad con ratas de 24 meses encontraron que en los sujetos 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) 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 las terminaciones dendríticas de sexto orden, lo cual ocurrió en una frecuencia promedio de menos de 0.5 por neurona (Connor y cols., 1981), y en ratas de 400 días de edad, las neuronas tuvieron un 30% de pérdida de material dendrítico en comparación con aquellas de 90 a 600 días de edad (Connor y cols., 1981).

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, encontrando que las neuronas piramidales de la capa III y las neuronas estrelladas de la capa IV de la corteza occipital de las 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: postnatal, madurez y la vejez. Sin embargo, en pocos estudios se ha observado el efecto del ambiente en el período prenatal.

Venable y cols. (1989) encontraron 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 órdenes de ramificaciones dendríticas, cuando éstas están más distales. Estos investigadores colocaron parejas de ratas neonatas en dos grandes grupos, una de las ratas de cada pareja 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 sujetos fueron sacrificados. Los resultados indicaron que las ratas que se mantuvieron en condiciones de AR tuvieron significativamente un promedio más grande (35% más) en el número de segmentos dendríticos del orden de 1 a 5, en comparación con aquellas neuronas de sujetos colocados en la condición estándar.

Los mecanismos por medio de los cuales el ambiente favorece el desarrollo del SNC son poco conocidos aún. Los estudios de Aoki y Siekevitz (1988) muestran con algún detalle la relación que existe entre el medio y los procesos de plasticidad en el SNC. Trabajando con gatos neonatos, los autores colocaron a un grupo de ellos en estimulación visual y otro grupo en oscuridad. Los animales con estimulación tuvieron un desarrollo normal de la vía visual, al contrario de los que estuvieron expuestos a la oscuridad. Más aún, los animales mantenidos en la oscuridad durante cuatro meses después del nacimiento y luego colocados en la luz, desarrollaban bien ésta vía. Esto implica que el proceso de plasticidad puede retardarse y es sensible para responder a la manipulación del ambiente. Si el tiempo de oscuridad se prolonga, entonces los animales quedan ciegos, ya que no se desarrolla la vía visual. El análisis bioquímico puso en evidencia que una proteína, a la que llamaron Proteína Asociada a los Microtúbulos 2 (MAP2) se activó en los gatos con estimulación luminosa y dirigió los efectos de la plasticidad en la vía visual, promoviendo la formación de interconexiones. Los autores sugieren que probablemente existen más proteínas que, como la MAP2, dirigen los eventos de plasticidad cerebral.

B) Sobre el cerebro dañado.

Parece ser que el primer estudio que se reportó al respecto fue hecho por P.O. Hebb, publicado en 1949 en su libro "The organization of Behavior" (Goldman y Lewill, 1978). Hebb menciona sus observaciones acerca de que los puntajes de Coeficiente Intelectual permanecen normales en pacientes a los que les fueron practicados diferentes tipos de neurocirugía, incluyendo lobotomía frontal. Estas formas de inteligencia son el producto de la variedad de experiencia durante el desarrollo y la relativa resistencia al daño cerebral.

Schwartz (1964) practicó lesiones en la corteza occipital de ratas neonatas y las asignó, después del destete, a AR y AP. Después de 120 días de exposición a tales condiciones, los animales fueron entrenados en una serie de pruebas-problema en el laberinto de Hebb-Williams. Los resultados muestran que la ejecución de los sujetos asignados al AR es tan adecuada como la de los sujetos control (sin lesión), contrastando con el rendimiento disminuido de las ratas lesionadas y expuestas a AP.

Rosenzweig (1976) realizó una revisión general de algunos de sus trabajos en donde se usó el AR en la recuperación de funciones perdidas por daño cerebral y, 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 sujetos estuvieron intactos, es decir, sin lesión; estos resultados no sólo los observaron en ratas neonatas lesionadas (Will, Rosenzweig y Bennett, 1976), sino también en ratas postnatales con daño cerebral (Will, Rosenzweig, Bennett, Hebert y Morimoto, 1977), o adultas (Will y Rosenzweig, 1976), 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 la recuperación funcional de la conducta de los animales lesionados. Estos experimentos también mostraron que una lesión confinada en la corteza occipital provoca la pérdida de tejido y de ADN en otras regiones de la corteza, pero que esto no fue obstáculo para que los sujetos lesionados mantenidos en AR presentaran recuperación funcional (Rosenzweig, 1984).

Estudios similares a los de Rosenzweig, sugieren que el mantener a los sujetos 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 (Dunnett y cols., 1986). Estos estudios sugieren algunos cambios que ocurren en el sistema nervioso

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. estudiaron el tiempo de exposición al AR necesario 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 hipotiroidea en ratas, por lo que concluyeron también que el AR estimula la recuperación en varias clases de daño cerebral.

Por lo anterior, se puede concluir que aún un cerebro dañado puede beneficiarse por la experiencia. Así, Bennett y Rosenzweig (1979) sugieren que el ambiente puede ser usado como terapia para promover una recuperación en animales con daño cerebral. En pacientes humanos, algunos expertos en rehabilitación han cuestionado el hábito de colocar a ciertos pacientes en aislamiento sensorial (por estado de coma, pacientes colocados en una posición fija en cuartos aislados con terapia intravenosa, paráliticos en sillas de ruedas por mencionar algunos ejemplos). Es muy probable que dichos pacientes, aún cuando no pueden responder puedan ser ayudados por las visitas, la música y una variable y combinada estimulación visual (Rosenzweig y Leiman, 1982).

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) 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, y que es subjetivo el hacer este tipo de comparaciones sin contar con una línea base o control adecuados.

V. EL MODELO DE HEMIPLEJIA EXPERIMENTAL.

A) Etiología.

La hemiplejía generalmente debe su origen a alteraciones de la vía piramidal y extrapiramidal (Noback y Demarest, 1980) producidas por enfermedades vasculares del cerebro y del tallo cerebral, traumatismos craneoencefálicos y, en menor medida a tumores cerebrales y procesos infecciosos (Adams, 1970)

Farreras-Valenti y Rozman (1976) definen a la hemiplejía como la pérdida en la mitad del cuerpo de la facultad para realizar movimientos dominados por la acción voluntaria. Cuando ésta es debida a una lesión, los efectos inmediatos incluyen la anulación temporal de los movimientos reflejos tendinosos (arreflexia), tras lo cual los músculos afectados adquieren un estado de flacidez; posteriormente, en una semana o meses, los músculos se tornan espásticos, el tono muscular aumenta (hipertonía) evolucionando en paresias o en incapacidades motoras funcionales caracterizadas por la disminución de la fuerza muscular y la pérdida en el control del movimiento, o en una parálisis (pérdida completa de la función motora); también se observa un incremento en la resistencia de los movimientos pasivos (signo de navaja) y una disminución de los reflejos cutáneos (Noback y Demarest, 1980). Según Farreras-Valenti y Rozman (1976), la incapacidad se manifiesta principalmente en los miembros superiores, particularmente en los músculos supinadores y en los extensores, los elevadores del brazo, los extensores de la mano y los oponentes del pulgar. Sin embargo, los pacientes pueden girar el brazo hacia adentro y cerrar la mano, o coger un objeto puesto en ella.

En la extremidad inferior, el psoas iliaco y el cuádriceps permanecen con su capacidad funcional, no así los flexores de la rodilla y los que la giran hacia afuera.

B) Desarrollo del modelo y su uso en la investigación básica.

La realización del presente trabajo se basó en la línea de trabajos desarrollada en el Laboratorio de Plasticidad Cerebral y Psicofisiología Aplicada (LPCyPA) de la Facultad de Psicología, UNAM.

El modelo de hemiparesia aquí presentado es el obtenido por Palacios y cols. (1981) en el LPCyPA. Los autores mapearon la Cápsula Interna (CI) de la rata y así lograron identificar las áreas de control de la musculatura corporal para provocar y replicar a un aceptable nivel, secuelas hemiparéticas que tienden a ser similares a las observadas en la hemiplejía del humano.

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 la extensión y la flexión de las extremidades posteriores y anteriores de la rata, a partir del cual, el objetivo principal fue la búsqueda de un modelo experimental de hemiplejía que permitiera el estudio posterior de su evolución.

Estudios posteriores, permitieron determinar que las lesiones en la zona baja de la CI de la rata provocaban secuelas hemiparéticas, observándose 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 en el que se recuperaron los sujetos fue de tres meses y medio, tiempo en el cual no intervino factor experimental alguno, a éste tipo de recuperación se le denominó Recuperación Pasiva (Palacios y cols., 1987). Se trató, de evaluar esas mismas secuelas en relación con los cambios en el ambiente, reportándose que en condiciones ambientales restringidas (ambiente pobre) todos los sujetos de una muestra de 10 perecieron, por lo que se modificaron algunos procedimientos; al replicar el experimento, los sujetos tuvieron un tiempo de recuperación post-operatoria de tres días, la cual evitó que estos murieran, finalmente volvieron a las condiciones de restricción de movimiento, las cuales favorecieron la evolución de las secuelas de la lesión, de tal manera que de hemiparesia evolucionó a hemiplejía pasando 20 días, en las mismas condiciones, una parte de los sujetos mostraron adaptación a ésta, con secuelas menos duraderas y definidas, mientras que otros sujetos tuvieron secuelas irreversibles. 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 LICyPA se dirigió a la evaluación de los efectos de las variables ambientales, así como a la medición del daño cerebral y de la recuperación funcional. El modelo de restricción del movimiento fue replicado por Cardona y Varela en 1985, 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 electrolytica 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 sujetos (Solano, 1984).
2. La Categorización Conductual.

3. El entintado de las extremidades, tanto anteriores como posteriores, como como un sistema evaluador de la marcha continua de los sujetos (Mullenix, Norton y Culver, 1976; Hruska y Sielbergeld, 1979; Hruska, Kennedy y Sielbergeld, 1979)

Posteriormente 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 identificó si la deficiencia en el consumo de proteínas interfiere con la recuperación de funciones perdidas por el daño cerebral motor, mediante una lesión electrolytica 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 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. Estudios posteriores realizados con el mismo fin, permitieron detallar y reafirmar dicha prueba paramétrica (Palacios, 1987), donde se observó que el largo del paso disminuye después de provocada la lesión, el ángulo del paso tiende a incrementarse y el ancho del paso se modifica ligeramente. En el mismo laboratorio, se está haciendo la réplica del modelo experimental de hemiplejía, en el cual se conjuntan varios aspectos mencionados anteriormente, y que tienen que ver con la inducción de la recuperación funcional después del daño cerebral, introduciendo una nueva variable: los Transplantes de Tejido Cerebral Embrionario (TTCE) (Palacios, datos no publicados).

El presente trabajo es parte del inicio de esta línea de investigación.

VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En los estudios con el modelo experimental de Hemiplejía, no se ha determinado hasta que punto la recuperación funcional ha sido consecuencia de los efectos de la Recuperación Pasiva (RP) o de la recuperación inducida por Transplantes de Tejido Neural Embrionario (TTNE), debido a la carencia de estudios enfocados a la caracterización de la RP y su posible relación con los mecanismos de la recuperación inducida por TTNE.

De la misma manera, aunque hay estudios que demuestran la influencia del Ambiente Rico sobre la RP, hasta ahora no hay los que estudien el efecto del ambiente rico sobre la recuperación inducida por TTNE.

Es necesario determinar si es el transplante el responsable de la recuperación funcional o lo es la interacción entre la recuperación inducida por TTNE y la RP.

VII. OBJETIVOS.

a) Identificar los efectos del ambiente enriquecido sobre la recuperación funcional pasiva y la inducida por los trasplantes de tejido neural embrionario en el modelo de hemiplejía experimental.

b) Caracterizar conductual y anatómicamente a la Recuperación Pasiva y a la Inducida por los trasplantes de tejido neural embrionario bajo condiciones de Ambiente Rico en ratas con una lesión unilateral intracerebral en la CI provocada por succión de tejido.

c) Medir los efectos de las variables que inducen la recuperación de funciones perdidas después del daño cerebral mediante una batería de pruebas de locomoción y movimiento.

VIII. HIPOTESIS.

La recuperación de funciones perdidas después del daño cerebral se dará más rápido en los animales portadores del trasplante y sometidos a un ambiente rico que en los que sólo experimentaran la interacción entre la recuperación pasiva y los efectos neurales del ambiente rico.

IX. MATERIALES Y METODO.

Para llevar a cabo las cirugías, se utilizó un equipo estereotáxico (David Köpff) de cuatro torres con adaptador para ratas, un taladro convencional para dentista con el cual se hicieron los trépanos, cánulas de succión, una microjeringa (Hamilton) de 10 μ l con la cual se depositaron los implantes, y el atlas estereotáxico de Pellegrino y Cushman (1963) para la determinación de las coordenadas estereotáxicas. Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (0.4 ml/Kg). Después de la cirugía, se inyectó a los animales 1 ml de penicilina para evitar la infección de la herida.

Una vez que finalizaron todos los periodos de registro, los animales se sacrificaron mediante perfusión cardiaca. Se obtuvieron los cerebros y se conservaron durante un corto periodo de tiempo en formol buffer al 10% a pH 7.4, posteriormente se incluyeron en parafina y se hicieron cortes de 5 μ m de grueso. A éstos cortes se les aplicó la técnica de Hematoxilina-eosina y la de Hematoxilina fosfotúngstica.

Sujetos.- Se utilizaron 25 ratas macho de cepa Wistar, de 3 meses de edad al inicio del experimento, asignadas azarosamente a los siguientes grupos:

Grupo:	No. de sujetos
Control	5
Lesión falsa	5
Recuperación pasiva	5
Transplante falso	5
Transplante verdadero	5

Todos los animales se mantuvieron en condiciones de laboratorio de ambiente enriquecido. Consistió en una jaula de las siguientes dimensiones: de 1 m de superficie por 0.5 m de altura; donde los animales fueron colocados juntos con un conjunto de artefactos para que tuvieran estimulación. Las ratas estuvieron con comida y agua ad libitum y un fotoperiodo de luz-oscuridad 12:12. La toma de registros se llevó a cabo de las 15:00 a las 17:00 hs.

Batería de pruebas.

La batería de pruebas utilizada estuvo diseñada para la medición de respuestas motoras con el fin de calcular la magnitud del daño provocado por la lesión. Tales pruebas se describen a continuación:

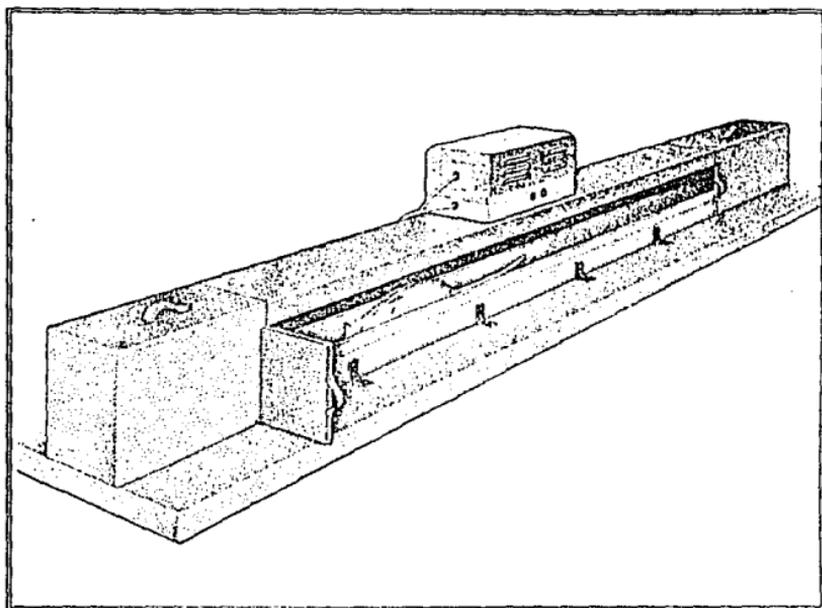


FIGURA # 1. Corredor. En él se hizo la prueba del Análisis de la Huella de la Marcha de la Rata. a) Caja de salida, b) caja meta y c) generador de choques.

a) Huella.- El Análisis de la Huella de la Marcha de la Rata (AHMR) ha sido utilizado anteriormente por otros autores para evaluar alteraciones en el desplazamiento (Mullenix, Norton y Culver, 1975) con resultados satisfactorios. Este análisis se hizo sobre las impresiones de las huellas

de la rata dejadas sobre una tira de papel, colocada dentro de un corredor de 140 cm por 16 cm (Fig # 1; ver ejemplo de impresión de la huella en el Apéndice). El animal se hizo pasar por éste con las patas previamente entintadas, de un color las anteriores y de otro las posteriores. En la impresión se midieron los siguientes parámetros: Ancho, Largo y Angulo de la zancada. Estos registros se tomaron constantemente para observar las variaciones que el desplazamiento presento a lo largo del tiempo.

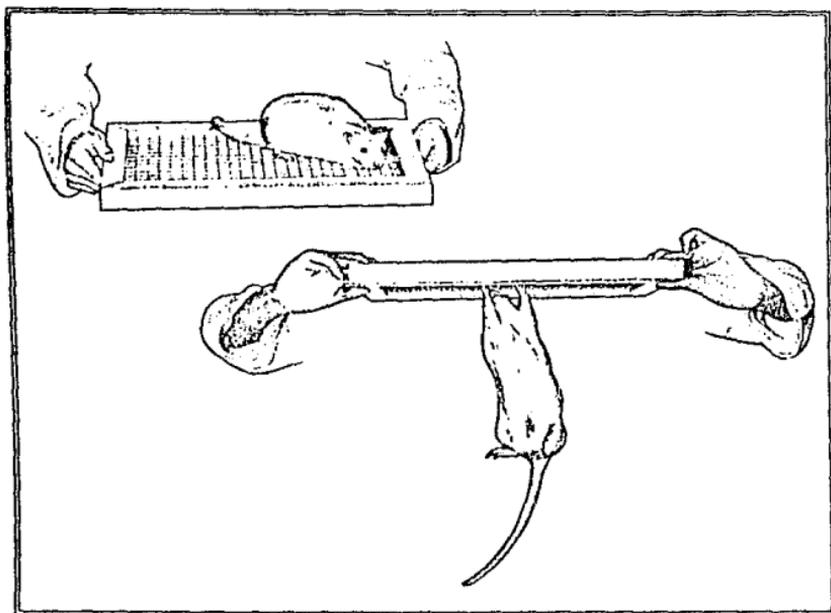


FIGURA # 2. Prueba de agarre. En a) el animal se colocó sobre la rejilla y en b) el animal se sujeta a ésta al ser volteada.

b) Agarre.- La prueba de agarre consistió en voltear la reja de la jaula sorpresivamente con el animal sobre ella. La rata inmediatamente se agarró de la rejilla (Fig # 2). Se tomó el tiempo en que el animal se desprendió de ésta.

c) Fuerza.- En ésta prueba se hizo que el animal jalara de un dinamómetro. Para lograr ésto, se colocó al animal frente a éste y se levantó de la cola; tendiendo entonces a jalar de él (Fig # 3). El mismo procedimiento se utilizó, para medir la fuerza de las patas traseras, pero colocando ahora el dinamómetro atrás del animal. Se anotó la fuerza desplegada en gramos.

d) Nado.- En ésta prueba se trabajó con la piscina de Muller. Se hizo nadar en ella al animal y se tomó el tiempo que tardó en recorrerla (Fig # 4).

Las pruebas se llevaron a cabo en el siguiente orden: un día se hicieron la de fuerza y la de corredor y otro día la de agarre y nado. Para aplicar esta batería se entrenó a los animales a pasar por cada uno de los dispositivos ya enumerados mediante técnicas de condicionamiento.

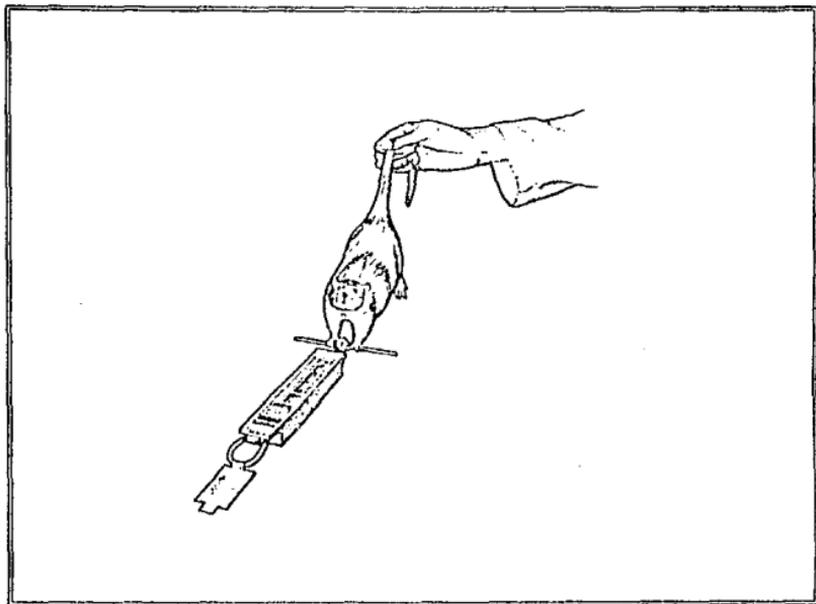


FIGURA # 3. Prueba de fuerza. Se hizo jalar al animal del dinamómetro, tanto con las extremidades delanteras como con las traseras.

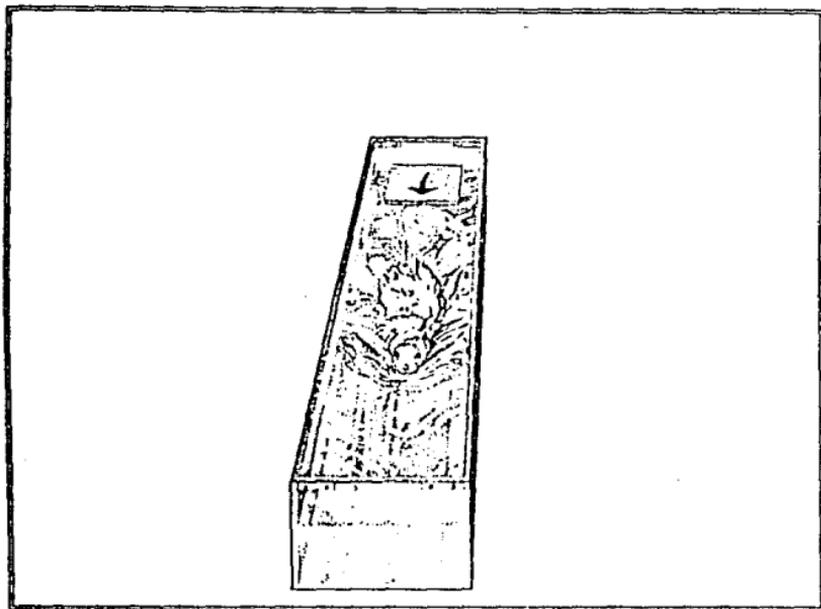


FIGURA # 4. Prueba de nado. Piscina de Müller. Se hizo nadar en ella al animal tomándose el tiempo que tardaba en llegar a la plataforma meta.

Los pasos a seguir fueron los siguientes:

1) Habitación al manejo experimental.

Diariamente se acarició y se manipuló a los animales uno por uno. Desde éste momento se entintaron las patas, de color rojo las anteriores y de azul las posteriores. Esta manipulación duró cinco minutos para cada individuo durante dos días.

2) habituación a la secuencia de medición.

La habituación a la secuencia de medición estuvo enfocada a que los animales reconocieran qué deben hacer en cada dispositivo. Se hizo que jalaran del dinamómetro con las patas delanteras y con las traseras, se dejó que exploraran el corredor; entintándose las patas, se dejaron en la caja de salida durante 3 segundos, se abrió la puerta-guillotina para que salieran al túnel, después de 5 minutos de permanecer en él, se sacó al animal y se le devolvió a su jaula. Si el animal alcanzaba la caja meta, se cerraba la puerta y también era devuelto a su jaula. Al otro día se sacaron a la hora de registro los animales y se colocaron en el orden predeterminado en una rejilla, para hacer la prueba de agarre. Después se metieron en la piscina donde nadaron, quedando solamente el trabajo de empujarlas para indicarles la dirección en la cual debieron hacerlo. Esta habituación duró dos días.

3) Moldeamiento.

Durante este periodo del condicionamiento, se castigaron con choques eléctricos las respuestas no deseadas. El moldeamiento se utilizó únicamente en la prueba de AHMR, y los animales fueron castigados en los siguientes casos: cuando no salieron de la caja de salida, cuando regresaron a ella una vez que hubieron salido, cuando se pararon antes de llegar a la caja meta, etc. Básicamente se buscó que los animales corrieran y se metieran en la caja meta para obtener así la impresión. No hizo falta moldear el comportamiento en las otras pruebas.

La batería fué aplicada a todos los grupos experimentales de tal manera que, como ya se mencionó, los datos de cada prueba fueran tomados cada tercer día. Estos datos se tomaron durante los siguientes periodos:

I.-Periodo de Línea Base (L.B).

Este periodo duró 1.5 meses y fué desde el momento en que los animales se encontraron ya moldeados hasta el momento en el que se provocó la lesión. Durante éste se mantuvo a todos los grupos sin intervención alguna, de tal forma que cada animal sirvió como su propio control.

II.-Periodo Post-Lesión (PL).

En este periodo se tomaron los registros durante 2 meses, y comprendió desde el momento en que se hizo la lesión hasta el momento en el que se llevó a cabo el implante. Previamente a la toma de registros correspondiente a éste periodo se sometió a algunos animales a cirugía estereotáxica para provocar en ellos una lesión falsa o verdadera en la CI según el grupo al que pertenecieron.

III.-Periodo Post-Transplante.

Los registros se tomaron durante 2.5 meses. Este periodo fué desde el momento en que se practicaron las cirugías de transplante hasta el momento en el que se iniciaron las perfusiones para el procesamiento histológico de los cerebros. Previamente se sometieron a algunos animales a cirugía estereotáxica para implantarles tejido cerebral embrionario en suspensión (Transplante Verdadero) o bien, solución D-Glucosa 5 % (Transplante Falso). Este periodo quedó definido también como periodo de seguimiento en aquellos grupos que no fueron sometidos a cirugía de transplante (ver grupos C, LF y RP, pág 46).

Durante todos los periodos se tomaron dos registros de AHMR y de nado, y uno de fuerza y agarre.

Al trabajar con la batería de pruebas, se reprodujo una cinta de ruido blanco. El ruido blanco es una combinación de ruidos que hacen que se pierda cualquier sonido proveniente del exterior, evitándose así la distracción de los animales al momento en que se tomaron sus registros. El corredor siempre era limpiado con benzal después de que un individuo hubiera pasado por él, para evitar que permanecieran olores que pudieran distraer a los animales que se registraron inmediatamente después. Por último, el agua de la piscina se mantuvo a 37 °C para evitar que el animal sintiera un cambio brusco de temperatura y se alteraran los registros.

Se excluyeron del experimento a aquellos animales que:

- a) No pudieron ser condicionados;
- b) Murieron durante alguna de las intervenciones quirúrgicas y
- c) Enfermaron durante el experimento.

Descripción de los tratamientos a cada grupo.

Se describirán a continuación los tratamientos que se dieron a los grupos ya mencionados.

Grupo Control (C).

Este grupo se mantuvo durante todos los periodos sin intervención alguna, unicamente se tomaron sus mediciones.

Grupo Lesión Falsa (LF).

Este grupo se mantuvo intacto durante la LB. Al finalizar la toma de registros correspondiente a la LB, los individuos se sometieron a cirugía estereotáxica para provocarles una lesión falsa en la Capsula Interna (CI), ésta se logró al introducir una cánula estéril en este sitio para posteriormente sacarla sin succionar el tejido. Se dejó en recuperación postoperatoria a los animales y se continuaron los registros durante los siguientes periodos sin recurrir a una nueva intervención. Con éste grupo se pretendió tener un control sobre los grupos a los cuales se les practicó una lesión verdadera, de tal forma que al ser comparado con éstos ayudó a visualizar la magnitud del daño producido por la succión de tejido.

Grupo Recuperación Pasiva (RP).

Este grupo se mantuvo intacto durante la LB. Al inicio del periodo PL se sometieron los animales a una cirugía estereotáxica para provocarles una lesión verdadera mediante la succión del tejido de la Cápsula Interna (CI), vía una cánula de acero. Una vez recuperados de la cirugía, se continuaron los registros durante los siguientes periodos sin recurrir a una nueva intervención.

Grupo Transplante Falso (TF).

Este grupo se mantuvo intacto durante la LB. Al inicio del periodo PL se sometieron los animales a una cirugía estereotáxica para provocar una lesión verdadera en la CI mediante la succión de tejido. Se continuaron los registros durante el periodo PL. Ocho días antes del inicio del periodo PT se sometieron nuevamente a intervención quirúrgica para inyectarles intracerebralmente 10 µl de solución salina. Se sometieron nuevamente a la batería de pruebas hasta finalizar el periodo PT. Este grupo se consideró como el control del grupo TV pues fue empleado para identificar los efectos que produce el vehículo de los TTNE.

Grupo Transplante Verdadero (TV).

Durante la LB, éste grupo permaneció intacto. Una vez pasado éste periodo, los sujetos se manejaron de la misma manera que el grupo TF, con la variante de que se les implantaron 10 µl de suspensión de células de corteza motora embrionaria en solución salina D-Glucosa 5 %, preparada

según el método de Fischback (1972) y obtenida de fetos de rata de 15 a 17 días de gestación, todos de la misma camada (Ver apéndice).

Agrupación de los datos para su análisis.

Los registros de la prueba de AHMR fueron analizados manualmente; se midieron el largo y el ancho de cinco zancadas impresas en cada tira de papel y como se obtuvieron dos tiras por registro, se seleccionó una media por cada diez pasos.

En la prueba de nado se efectuaron dos registros por cada sesión, y se promediaron. Las pruebas de fuerza y agarre solamente se registraron una vez por sesión. Este proceso de agrupación de datos se aplicó para cada individuo y se llevo una bitácora del desarrollo del experimento. Los datos fueron capturados en una microcomputadora mediante un programa que hace cálculos estadísticos por rangos. Se construyo entonces una base de datos ordenada de acuerdo a la fecha de cada registro, empezando por los más antiguos; de esta forma, los datos quedaron en correspondencia al número de sesiones que representan el tiempo que duró la evaluación conductual durante cada uno de los periodos correspondientes, (Tabla # 1).

Formato para los registros individuales					
Rata #	Sesión #	Paso 1	"	Paso 10	Media
a	1	p1	"	p10	va
a	2	p1	"	p10	va
"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"
a	n	p1	"	p10	va

TABLA # 1. Formato para los registros individuales, donde:
 a → clave de la rata, p1 → primer paso de la tira,
 p10 → último paso de la tira; p representa largo, ancho o ángulo.
 media = $p1+p2+...+p10 \div 10$.

Para construir la base de datos con los registros correspondientes a cada grupo experimental, las bases de datos de cada uno de los individuos se clasificaron por grupo y por sesión. Se promediaron entre sí aquellos valores que pertenecieran a la misma variable, a la misma sesión, al mismo grupo y al mismo periodo, obteniéndose una base de datos con el mismo formato utilizado para los registros individuales (Tabla # 2).

Formato para los registros globales.						
RATAS DEL GRUPO CORRESPONDIENTE						
sesion #	a	b	c	d	e	media
1	va	vb	vc	vd	ve	V
2	va	vb	vc	vd	ve	V
"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"	"
N	va	vb	vc	vd	ve	VN

TABLA # 2. Formato para los registros globales, donde:
 v -> variable: largo, ancho o ángulo,
 media = $va+vb+vc+vd+ve \div 5$ de ratas.
 La zona sombreada se extrajo de la tabla # 1.

Estudio Histológico.

Al finalizar el estudio conductual, todos los animales fueron sacrificados mediante perfusión cardiaca, para ello se utilizó formaldehído buffer neutro al 10 % como fijador. Se extrajo el cerebro, se seccionó la zona del trasplante, y ésta sección fue guardada en frascos de vidrio con fijador durante dos semanas. Una vez pasado el tiempo de la fijación, las secciones fueron lavadas y se procedió entonces a aplicar en ellas los métodos de rutina para la inclusión en parafina. Los bloques fueron cortados coronalmente en secciones de 5 μ m que fueron montadas en los portaobjetos con su respectiva etiqueta de identificación. Finalmente, las laminillas fueron procesadas mediante las técnicas de Hematoxilina-eosina (HE) para caracterizar los principales tipos celulares que presentaron en las zonas lesionadas y tratar de establecer así la posición de la cánula y sus efectos al ser introducida en el parenquima cerebral. Fué también utilizada la técnica de Hematoxilina fosfotúngstica (HF) para la observación de fibras mielínicas, para evidenciar los procesos de desmielinización después de practicada la lesión y también para observar si existió una reorganización de las fibras después del daño.

X. RESULTADOS.

A) Análisis de los datos.

Las Tablas # 3 y 3a muestran las Medias \pm Error Estándar de la media (ES) obtenidas en cada una de las pruebas. También se llevó a cabo un Análisis de Regresión Polinomial (ANREPO), que consistió en buscar el grado polinomial más significativo, los resultados se muestran en las Tablas # 4 y 4a. Con este tipo de análisis es posible hacer comparaciones interperiódicas ya que en este caso no se procesan los datos de tal manera que se sumen los ES, sino que el análisis es aplicado sobre cada uno de los puntajes experimentales, obteniendo así un valor representativo para cada punto. La curva que de esta manera se forma obedece a un modelo matemático del tipo polinomial y esta característica es distintiva para cualquier tipo de regresión. Sin embargo, el ANREPO es más sensible al ajuste de puntos muy dispersos entre sí, ya que si se ocupa un método de regresión simple, no es posible saber si la pendiente es positiva o negativa, es decir, es difícil visualizar la tendencia de la curva a lo largo del tiempo.

Para el caso del Largo del paso se observa que los ES son muy uniformes durante el periodo de LB (Figura # 5A), pero que las medias no lo son. La Figura # 7 muestra las gráficas correspondientes al Largo del Paso para cada grupo y para cada periodo, donde el eje de las ordenadas corresponde al número de sesiones y el de las abscisas al Largo del paso en centímetros. Se observa en el grupo C el desarrollo normal del parámetro en estudio a lo largo del tiempo. Es visible la tendencia lineal que presentan las curvas cuando no hay una lesión. Sin embargo, no siempre es así. Se observa que los grupos TF y TV presentan una tendencia sinusoidal durante el periodo de LB. Por tal motivo, y con base en las razones ya expuestas, se decidió en este caso hacer las comparaciones interperiódicas y utilizar a cada grupo como su propio control. Durante el periodo PL las medias son muy diferentes también y se ve que en todos los grupos el paso se acorta en relación al periodo de LB, por lo tanto no puede ser atribuido al efecto de la lesión, más bien puede indicar que es un efecto normal durante el desarrollo de la rata como consecuencia del aprendizaje adquirido. En las gráficas correspondientes al periodo PL de la figura # 7 es visible el efecto que se produce después de efectuada la lesión en todos los grupos experimentales a excepción del grupo TF, que muestra una tendencia lineal parecida a la del grupo C. También es posible ver que la dispersión de los datos alrededor de la media se hace mayor en todos los grupos y solamente se mantiene en el grupo TV casi sin cambio. Así, a medida que el paso se acorta, aumenta el rango de los valores. Después del implante, (periodo de PT o seguimiento), el paso en todos los grupos se acorta aún más, pero sus medias pueden ser comparadas con la del grupo C. Obsérvese aquí que los grupos RP y TF tienen los valores más bajos. De la misma forma, el ES del

grupo RP es el más alto. Volviendo a la Figura # 7 en el periodo PT o seguimiento se ve la tendencia a la recuperación del modelo inicial en todos los grupos.

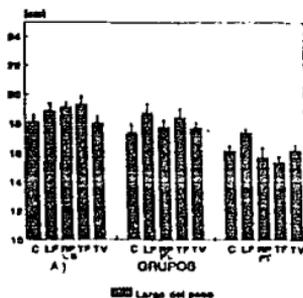
PROMEDIOS OBTENIDOS EN CADA UNA DE LAS DIFERENTES PRUEBAS.				
GRUPO	LARGO (cm)	ANCHO (cm)	ANGULO (grados)	NADO (seg)
PERIODO LB				
C	18.12 ± 0.22	2.30 ± 0.02	14.29 ± 0.18	1.19 ± 0.05
LF	18.88 ± 0.24	2.70 ± 0.04	15.96 ± 0.18	1.40 ± 0.09
RP	19.11 ± 0.14	2.48 ± 0.04	14.55 ± 0.26	1.04 ± 0.06
TF	19.34 ± 0.24	2.90 ± 0.05	16.70 ± 0.27	1.16 ± 0.05
TV	18.04 ± 0.21	2.56 ± 0.05	15.85 ± 0.38	1.05 ± 0.02
PERIODO PL				
C	17.35 ± 0.29	2.42 ± 0.05	15.66 ± 0.32	1.45 ± 0.06
LF	18.77 ± 0.29	2.81 ± 0.04	16.73 ± 0.31	1.28 ± 0.04
RP	17.76 ± 0.24	2.78 ± 0.05	17.40 ± 0.41	1.04 ± 0.04
TF	18.42 ± 0.31	3.07 ± 0.05	18.49 ± 0.36	1.16 ± 0.03
TV	17.69 ± 0.20	2.51 ± 0.04	15.90 ± 0.26	1.19 ± 0.04
PERIODO PT ó SEGUIMIENTO				
C	16.19 ± 0.14	2.33 ± 0.03	16.08 ± 0.28	1.69 ± 0.04
LF	17.37 ± 0.13	2.67 ± 0.03	17.10 ± 0.24	1.42 ± 0.03
RP	15.74 ± 0.31	2.60 ± 0.04	18.50 ± 0.51	1.32 ± 0.04
TF	15.38 ± 0.18	2.86 ± 0.04	20.42 ± 0.36	1.30 ± 0.04
TV	16.24 ± 0.17	2.48 ± 0.03	17.02 ± 0.32	1.34 ± 0.03

TABLA # 3. Medias ± Error Estándar obtenidas en cada una de las diferentes pruebas.

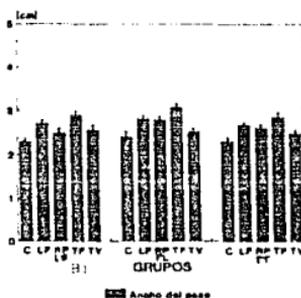
PROMEDIOS OBTENIDOS EN CADA UNA DE LAS DIFERENTES PRUEBAS.			
GRUPO	AGARRE (seg)	FZA DEL (g)	FZA TRAS (g)
PERIODO LB			
C	3.21 ± 0.04	98.8 ± 6.47	91.02 ± 9.05
LF	7.87 ± 0.53	102.3 ± 5.50	102.39 ± 9.48
RP	6.66 ± 0.60	92.92 ± 8.10	85.97 ± 9.76
TF	36.32 ± 4.26	110.69 ± 7.23	97.08 ± 10.81
TV	26.91 ± 3.97	111.48 ± 6.71	94.35 ± 11.99
PERIODO PL			
C	7.13 ± 0.54	77.35 ± 5.05	77.12 ± 6.30
LF	6.34 ± 0.36	85.50 ± 3.44	89.55 ± 4.43
RP	6.05 ± 0.47	85.45 ± 5.84	80.91 ± 4.82
TF	38.26 ± 3.08	88.41 ± 4.39	85.00 ± 6.04
TV	15.95 ± 1.56	87.20 ± 4.53	88.03 ± 4.14
PERIODO IT			
C	19.56 ± 1.52	91.43 ± 5.33	83.99 ± 5.36
LF	8.39 ± 0.36	103.83 ± 4.74	96.52 ± 5.45
RP	7.85 ± 0.35	93.04 ± 7.2	91.16 ± 7.29
TF	40.45 ± 2.42	106.65 ± 5.19	89.35 ± 8.38
TV	15.96 ± 1.50	105.00 ± 6.66	85.12 ± 4.96
FZA DEL. Fuerza de las patas delanteras.			
FZA TRAS. Fuerza de las patas traseras.			

TABLA # 3a. Medias ± Error Estandar obtenidas en cada una de las diferentes pruebas.

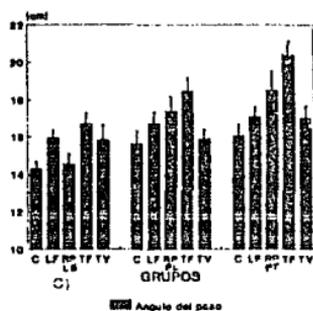
LARGO DEL PASO
Intervalos de confianza 95 %



ANCHO DEL PASO
Intervalos de confianza 95 %



ANGULO DEL PASO
Intervalos de confianza 95 %



NADO
Intervalos de confianza 95 %

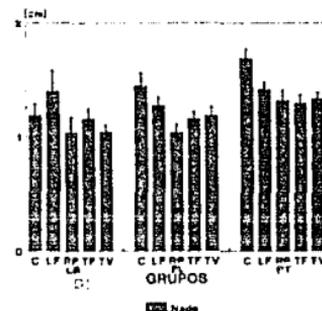


FIGURA # 5. Se muestran las medias de los diferentes grupos en cada prueba.
A) Largo del paso, B) Ancho del paso, C) Angulo del paso y D) Nado.

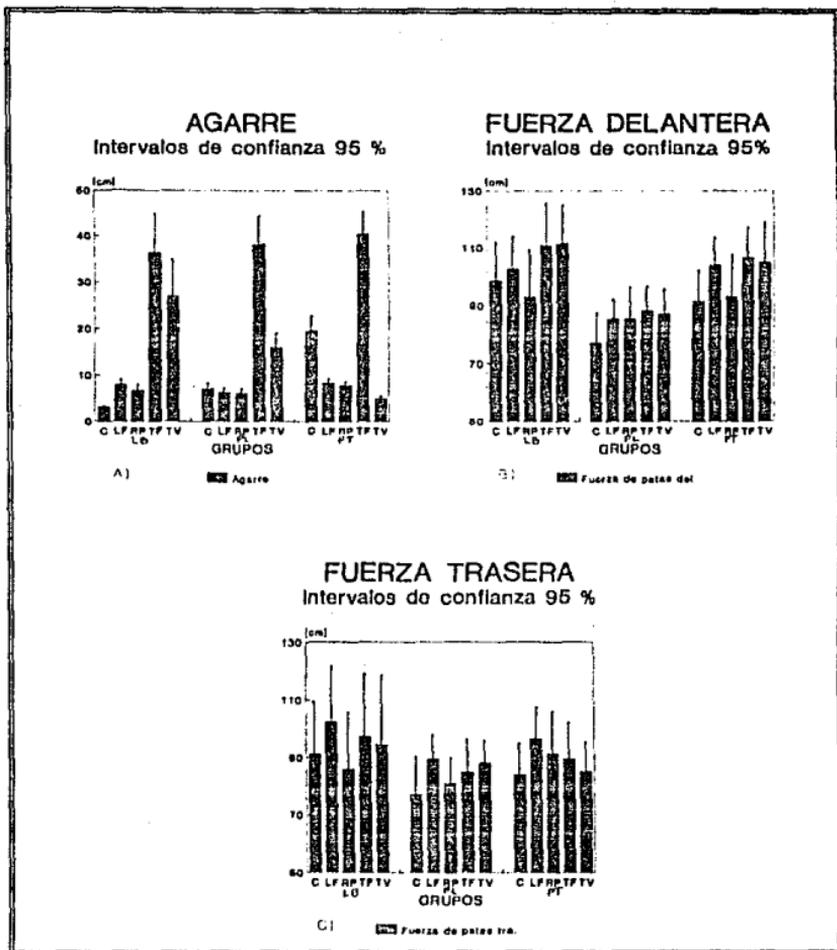


FIGURA # 6. Se muestran las medias de los diferentes grupos en cada prueba. A) Agarre, B) Fuerza de las patas delanteras y C) Fuerza de las patas traseras.

Para el ancho del paso (Figura # 5B) no se observaron valores promedio tan diversos entre sí, pero hay que resaltar que tales diferencias son de la magnitud de décimos de centímetro. Lo que sí es evidente son los cambios tan pequeños en la dispersión de los datos. En la Figura # 8 se muestran los ajustes realizados para el ancho del paso, observándose ligeras variaciones durante los periodos de registro. Sin embargo, la tendencia lineal fué muy marcada durante el periodo de LB, continuándose con una tendencia sinusoidal durante el periodo PL en todos los grupos y parece regresar a la primera durante el periodo PT.

Para poner en evidencia los cambios entre el largo y el ancho de la zancada, se consideró que el análisis del Angulo del paso es el más representativo. Tomando en cuenta que esta variable fué calculada a partir de una relación entre el largo y el ancho (Ver apéndice sección 1), es de esperarse que sea la más sensible a los cambios producidos por la lesión. Se observa que durante la LB las medias (Figura # 5C) son diferentes. En el ajuste polinomial (Figura # 9) se puede observar que durante el periodo de LB la tendencia lineal tiende a desaparecer en todos los grupos haciéndose de tipo sinusoidal, mostrando ciclos de pasos con ángulo cerrado y pasos con ángulo abierto, alternados entre sí a lo largo del tiempo. Durante el periodo de PL, el ángulo se incrementó en todos los grupos, al igual que la dispersión de los datos, a excepción del grupo TV en el cual el ángulo del paso se hace más uniforme, según se ve con el ES. El ajuste polinomial muestra que durante el periodo de PL el comportamiento de los grupos experimentales es de tipo hiperbólico, no así el del grupo C, que mantiene un tipo sinusoidal. Los valores promedio durante el periodo de PT o seguimiento se corresponden en razón inversa al Largo del paso, aumentando el ángulo, encontrándose el valor más alto en los grupos RP y TF. En el ANRGEPO se observó un comportamiento sinusoidal en los grupos C, RP y TF.

GRADO DE LOS POLINOMIOS MAS REPRESENTATIVOS PARA CADA GRUPO EN LOS DIFERENTES PERIODOS.					
PERIODO LINEA BASE					
	C	LF	RP	TF	TV
Largo	2 *	2 *	5	4 *	3 *
Ancho	3	2**	5	2 *	3 *
Angulo	5	5	4	3 *	3 *
Nado	3 *	2 *	3 *	5	7
Agarre	2 *	4	4	5	3**
Fza del	4	5**	2 *	7	4
Fza tra	2 *	4**	2 *	2**	2**
PERIODO POST-LESIÓN					
	C	LF	RP	TF	TV
Largo	2 *	4**	4	2 *	5 *
Ancho	4	4**	2 *	4	4**
Angulo	5	4	2 *	2**	2**
Nado	2 *	4 *	2 *	2 *	2 *
Agarre	2 *	3**	2 *	8	5
Fza del	2 *	3	5	4**	4
Fza tra	3 *	2**	3 *	5	3**

TABLA # 4. Fza del= Fuerza de las patas delanteras,
Fza tra= Fuerza de las patas traseras.

* Significativo al 1 %

** Significativo al 5 %

Los números escritos con *negritas* indican *no significativo*.

TABLA # 4a					
PERIODO POST-TRANSPLANTE O SEGUIMIENTO					
	C	LF	RP	TF	TV
Largo	2	2 *	4 *	5	3 *
Ancho	5 *	2 *	3 *	2 *	2
Angulo	3 *	2 *	3 *	5	2 *
Nado	7	5	4 *	4 *	4
Agarre	5	3	3 *	7	9
Fza. del.	9	4 *	3	7	3
Fza tra.	10	3	4	2**	7

TABLA # 4a. Fza del= Fuerza de las patas delanteras,
Fza tra= Fuerza de las patas traseras.

* Significativo al 1 %

** Significativo al 5 %

Los números escritos con *negritas* indican *no significativo*.

En el caso de la prueba de nado (Figura # 5D), se encontró que para el periodo de LB también existen diferencias en el tiempo de ejecución. Lo importante en este caso son los ES que se observan muy heterogéneos pero no son muy altos, correspondiendo el mayor al grupo LF y el menor al grupo TV. Se observa en el ajuste polinomial un comportamiento de tipo senoide en todos los grupos (Figura # 10). Durante el periodo PL, los ES se hacen más homogéneos. El tiempo de ejecución aumentó en el grupo TV y se mantuvo en el grupo RP y TF. En el ANREPO durante el periodo de PL se muestra una tendencia lineal en todos los grupos. Durante el periodo de seguimiento, los grupos aumentaron su tiempo de ejecución, los datos se hicieron más homogéneos aún y se volvió al comportamiento senoide.

Para la prueba de agarre, en la tabla # 3a y en la Figura # 6A, se observa que los promedios son muy variables, aún durante el periodo de LB y los ES se hacen muy heterogeneos. En las comparaciones intergrupales, el valor de n es el mismo siempre, esto no sucede en las comparaciones interperiódicas, ya que para cada periodo existe una n distinta, de tal manera que aquel periodo cuya n sea la más grande tendrá un ES más pequeño en relación a los periodos cuya n es más pequeña. Es más probable que el intervalo del error estándar del periodo de n mayor, en este caso PT, no alcance a traslaparse entre los restantes y pueden ser observadas entonces diferencias significativas interperiodicas y se rechaza H_0 siendo esta verdadera (error de tipo I). Si se observa, en general el ES en la mayoría de los grupos disminuye durante el periodo PT, cuya n , como ya se menciono, es la más grande. Aunque la n es igual para todos los grupos, el ES toma un valor muy grande en algunos casos. Estas observaciones motivaron la exclusión de la prueba del ANREPO.

En los registros de Fuerza de las patas delanteras y en los de Fuerza de las patas traseras (Figuras 6B y 6C, y Tabla # 3a) es notorio que los ES son muy grandes en todos los grupos. Además, la tendencia en todos los grupos es a disminuir la fuerza durante el periodo de PL y a volverla a aumentar durante el periodo de seguimiento. En estas gráficas, a diferencia de la prueba de agarre, si hay una consistencia entre las medias. Se construyeron intervalos de 95 % de confianza y se observó una traslapación de todos ellos. Por este motivo, estas pruebas se excluyeron del ANREPO.

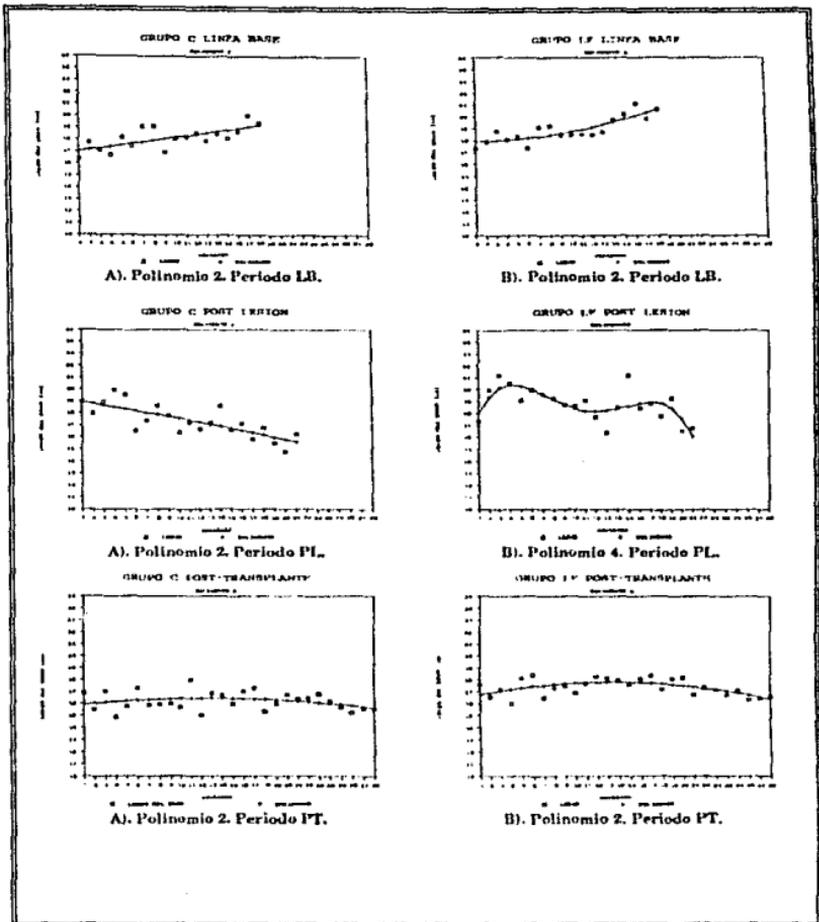


FIGURA # 7. Comportamiento del Largo del paso. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. A) Grupo C y B) Grupo LP.

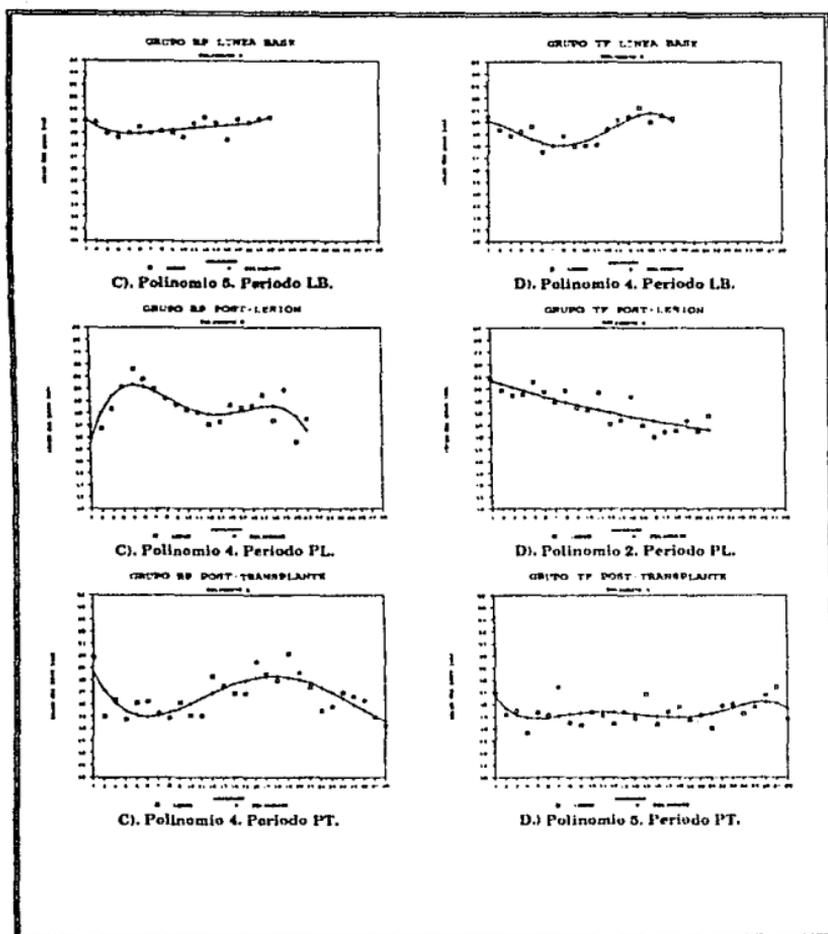


FIGURA # 7. Comportamiento del Largo del paso. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. C) Grupo RP y D) Grupo TF.

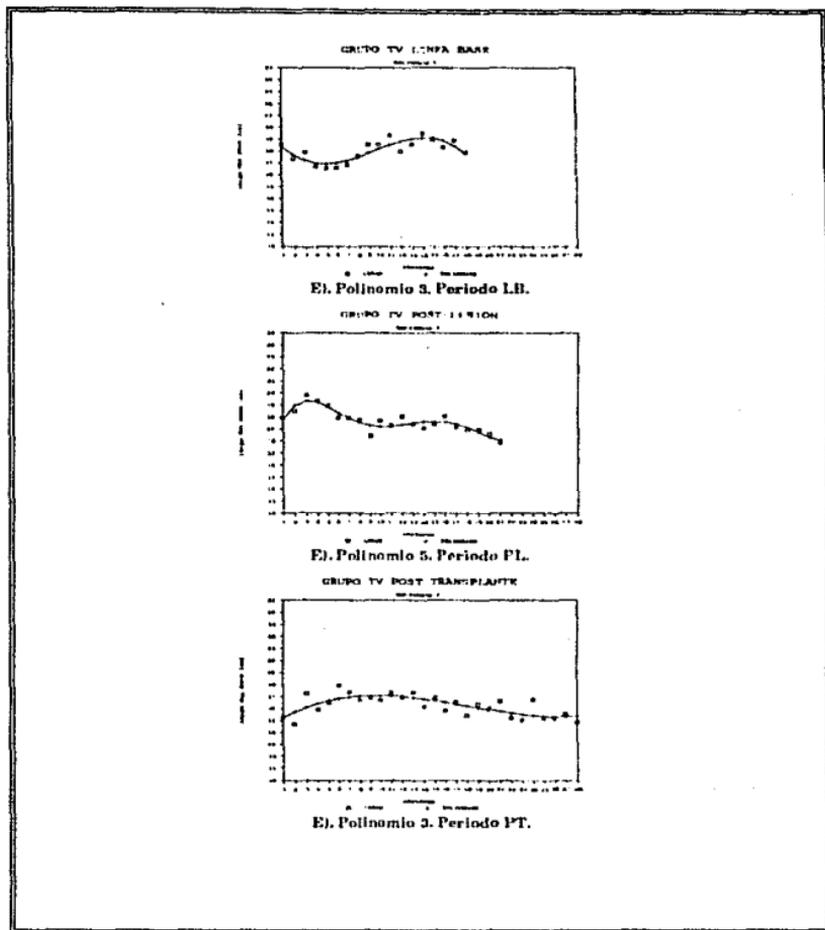


FIGURA # 7. Comportamiento del Largo del paso. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. E) Grupo TV.

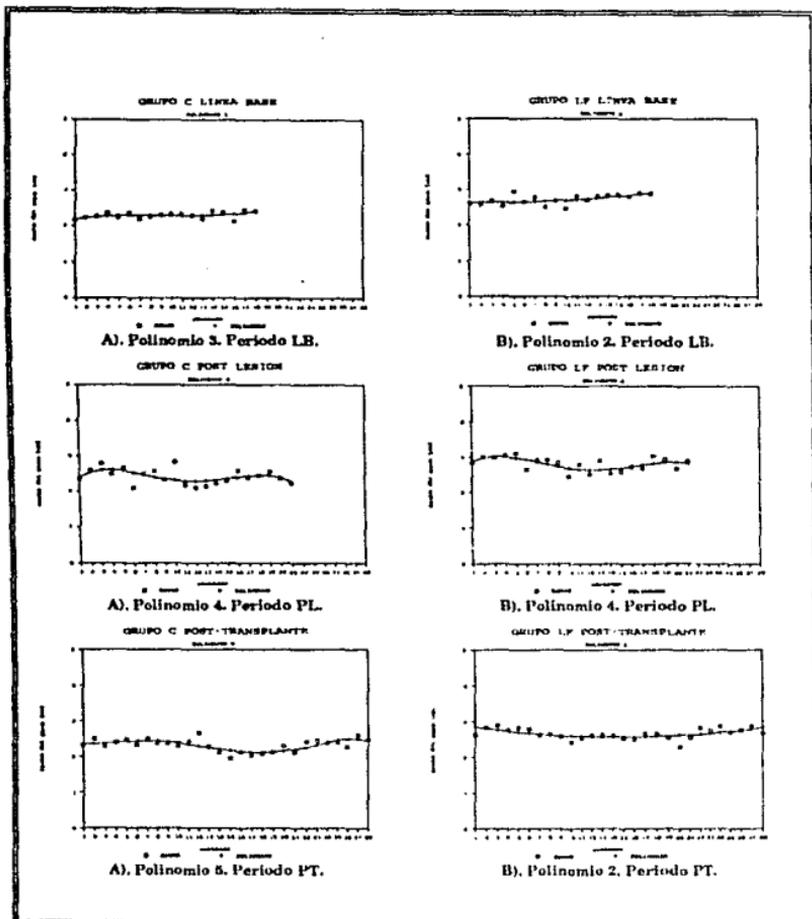


FIGURA # 8. Comportamiento del Ancho del paso. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. A) Grupo C y B) Grupo LF.

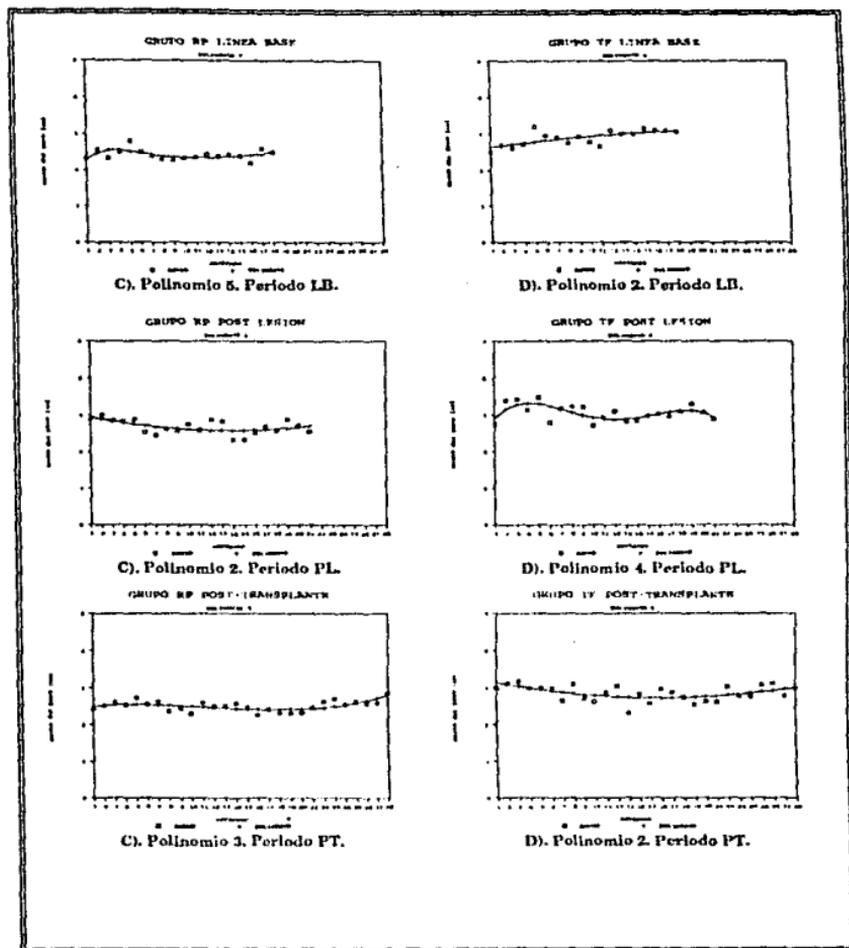


FIGURA # 8. Comportamiento del Ancho del paso. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. C) Grupo RP y D) Grupo TP.

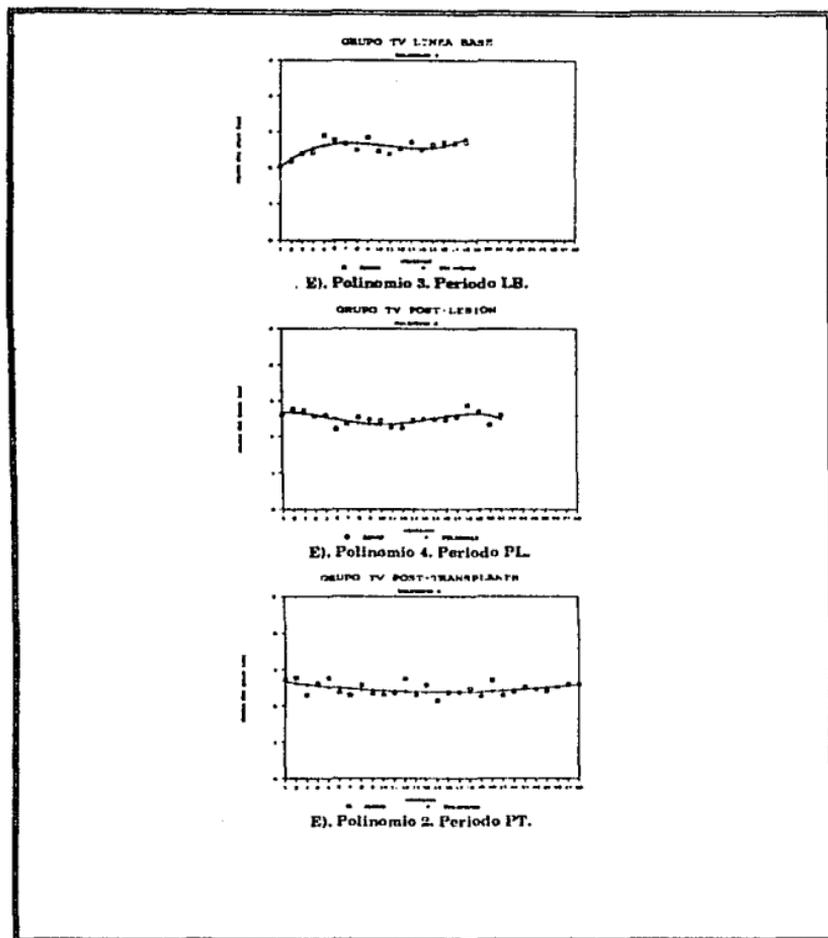


FIGURA # 8. Comportamiento del Ancho del paso. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. E) Grupo TV.

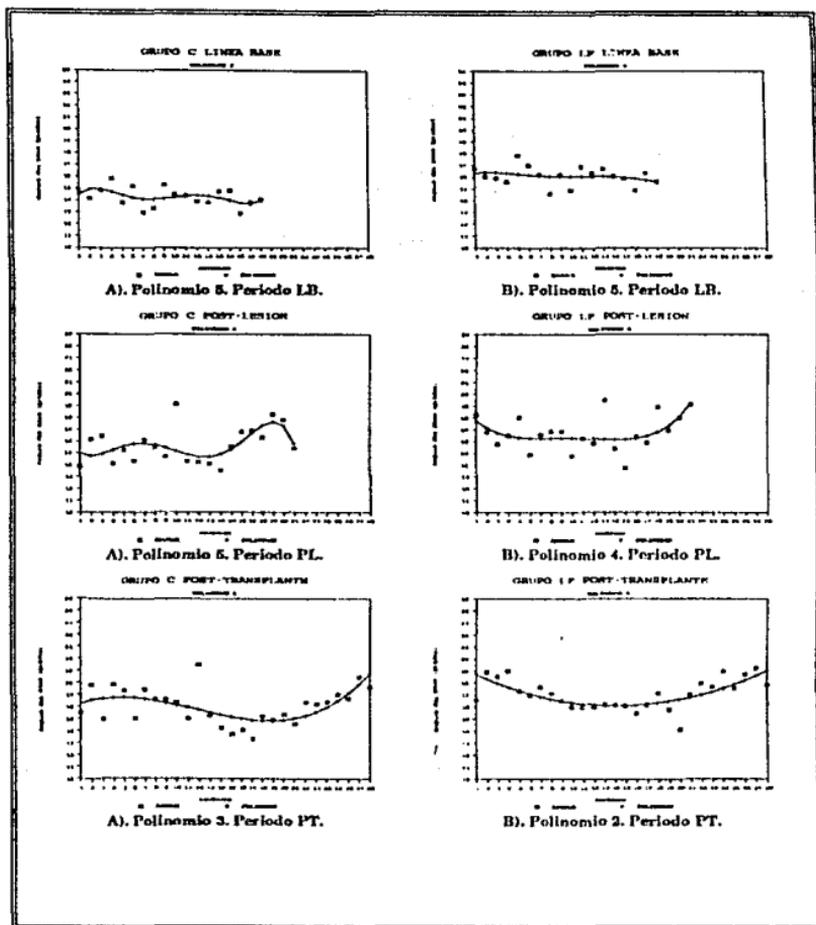


FIGURA # 9. Comportamiento del Angulo del paso. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. A) Grupo C y B) Grupo LP.

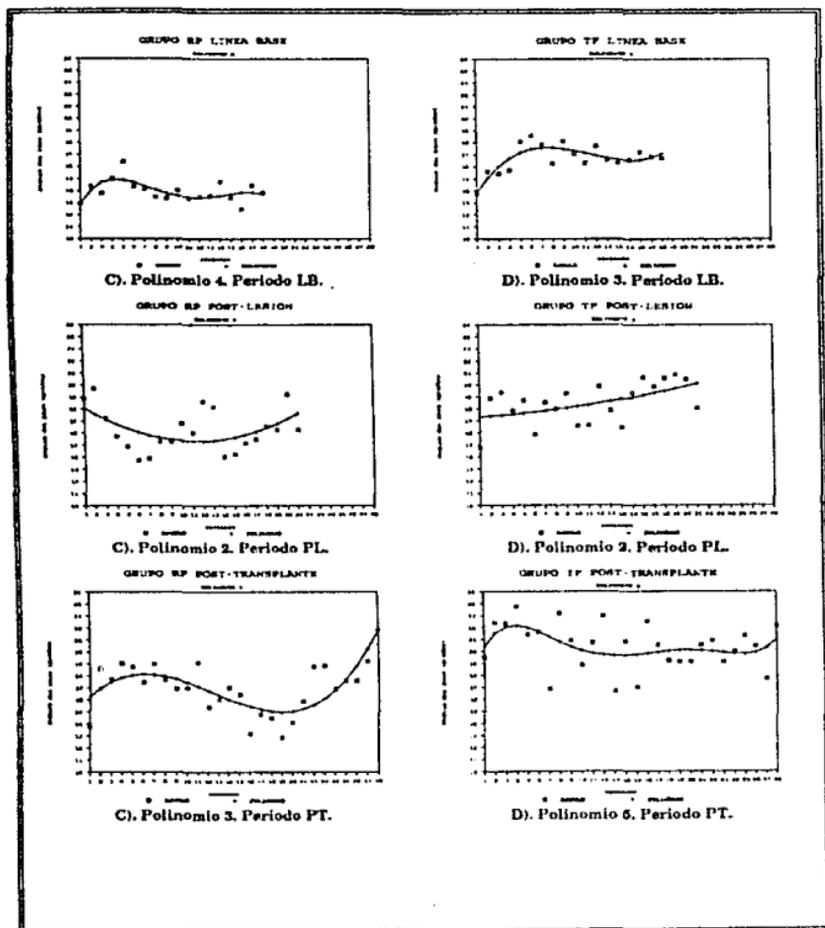


FIGURA # 9. Comportamiento del Angulo del paso. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. C) Grupo RP y D) Grupo TF.

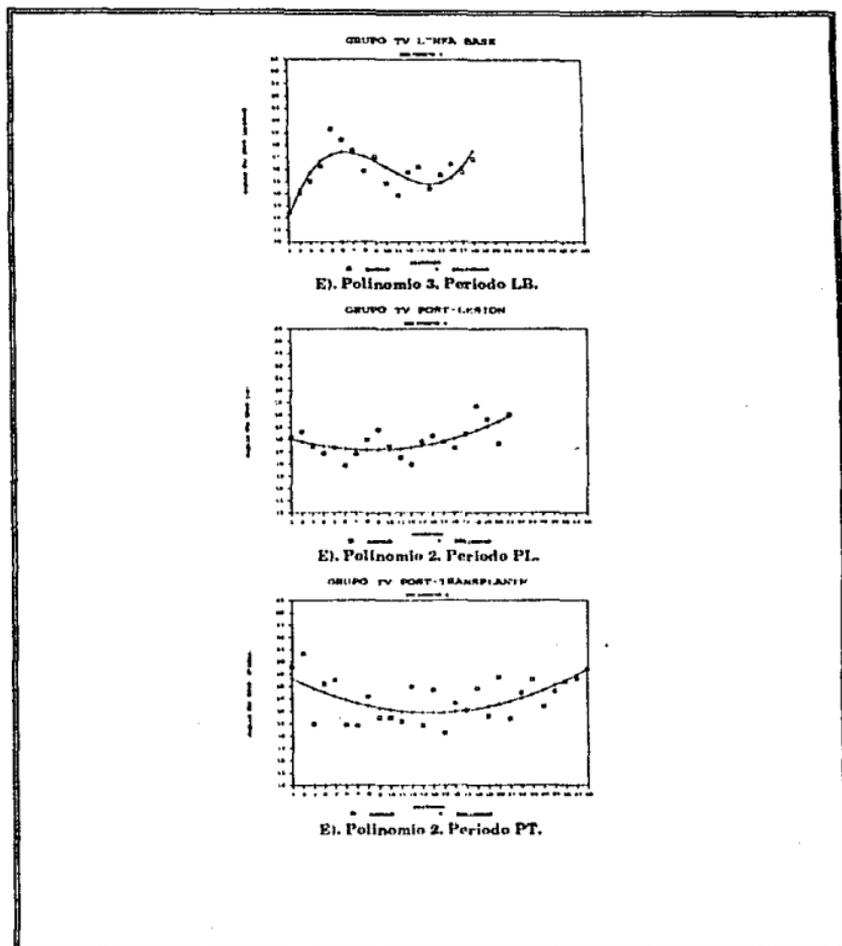


FIGURA # 9. Comportamiento del Angulo del paso. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. El Grupo TV.

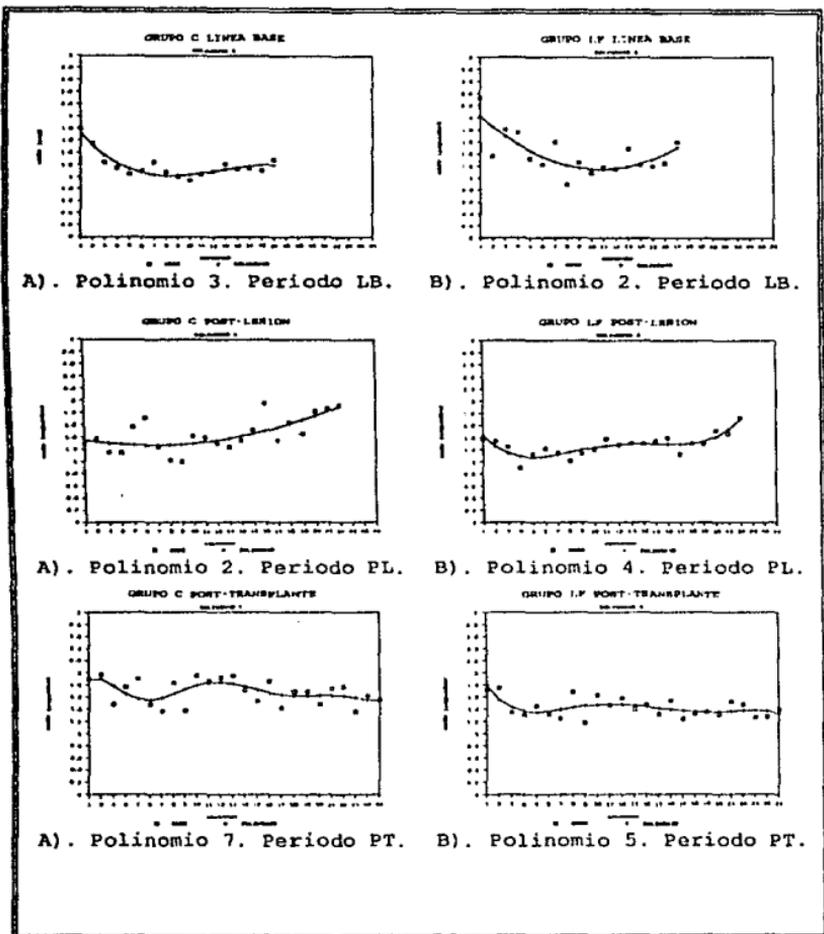


FIGURA # 10. Comportamiento del Nado. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. A) Grupo C y B) Grupo LF.

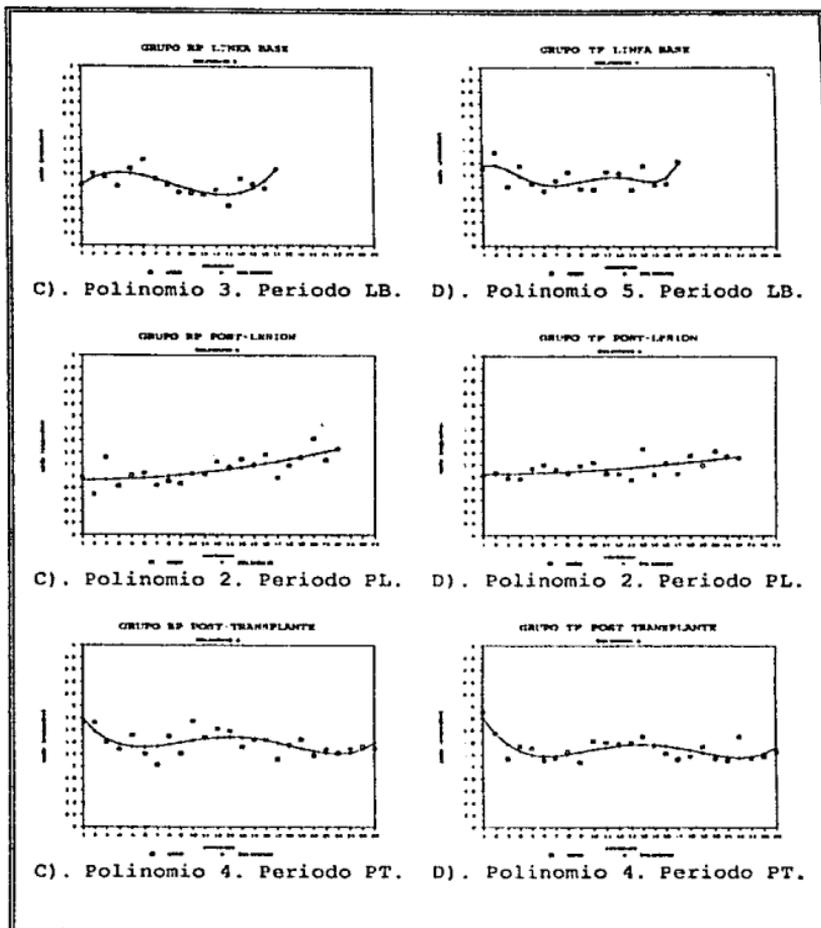


FIGURA # 10. Comportamiento del Nado. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. C) Grupo RP y D) Grupo LP.

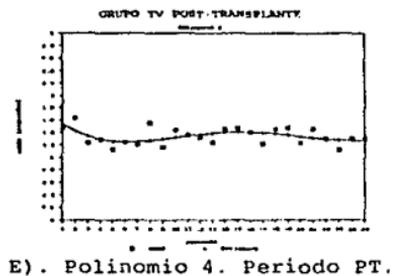
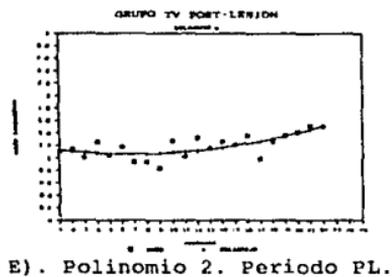
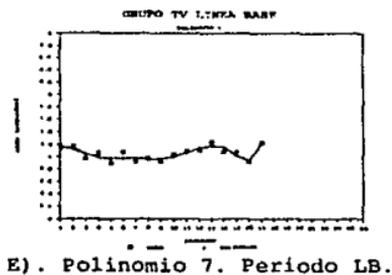


FIGURA # 10. Comportamiento del nado. Se indica el grado del polinomio empleado para el ajuste y el periodo de registro. El Grupo TV.

B) Análisis histológico.

Como ya se mencionó, se utilizaron las técnicas de HE y la de HIF. La primera de ellas pone de relieve las generalidades del tejido, sobre todo fue utilizada para caracterizar los elementos celulares presentes en la zona de lesión. La segunda fue aplicada para observar directamente la Cápsula Interna (CI). Esta estructura está formada por fibras mielínicas provenientes de la corteza motora que se tiñen de color azul con la aplicación de la técnica mencionada. En todos los grupos, a excepción del Control, se encontró una respuesta inflamatoria típica identificada principalmente por la presencia de macrófagos en la zona de la lesión. Una limitación de las técnicas utilizadas fue la de que no llegó a ser posible la identificación de astrocitos fibrosos. En todos los animales de los grupos TF y TV se observó una cavidad. No se puede hablar de la sobrevivencia del trasplante. Si esto se hubiera dado se esperaba encontrar un agregado de células de tejido transplantado con la apariencia de una cápsula.

En las siguientes figuras se han incluido los cortes del cerebro de algunos animales para ilustrar la zona en la que se hizo la lesión.

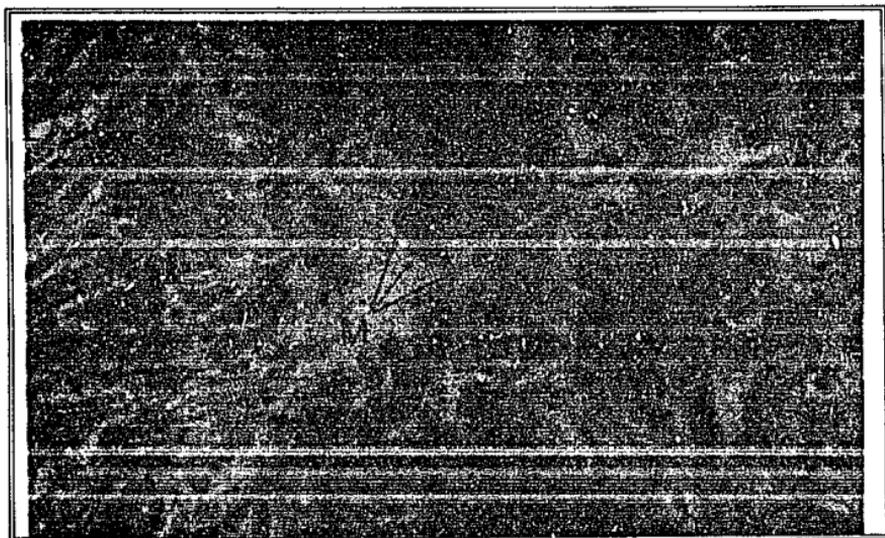


FIGURA # 11. Microfotografía de un corte correspondiente a un sujeto del grupo TF. M) Macrófagos asociados a la zona lesionada. Hematoxilina-eosina. x320.



FIGURA # 12. Microfotografía de un corte correspondiente a un sujeto del grupo TF. Cc) Cuerpo caloso. Hematoxilina-eosina. x100.

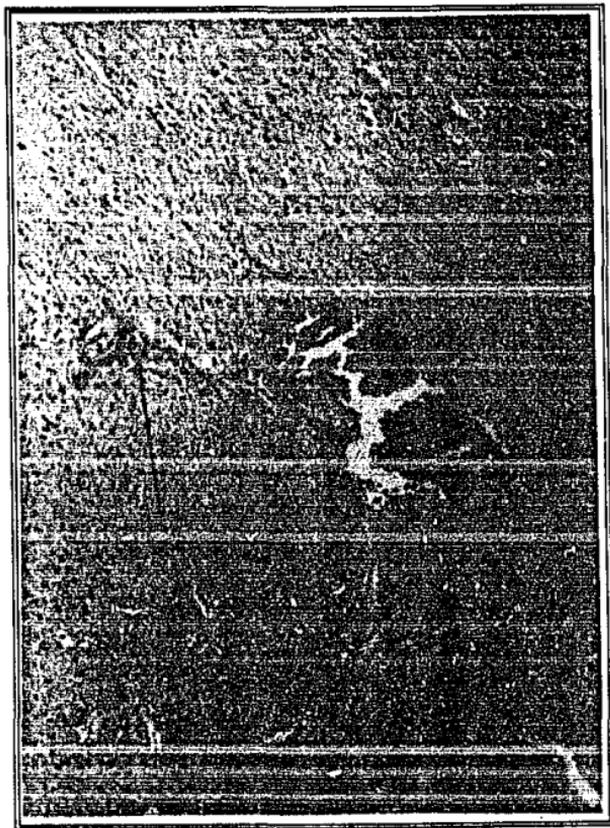


FIGURA # 13. Microfotografía de un corte correspondiente a un sujeto del grupo TV. Cc) Cuerpo calloso, Cz) Cicatriz. Hematoxilina-eosina. x83.

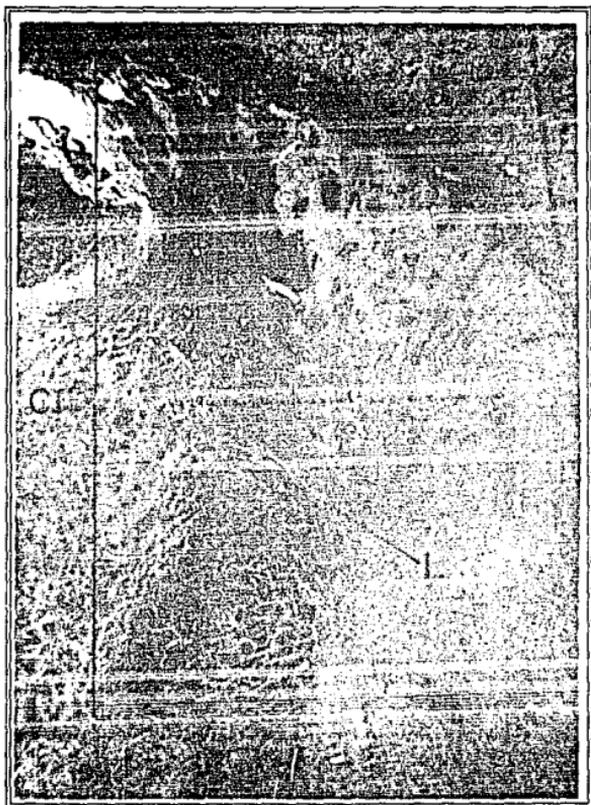


FIGURA # 14. Microfotografía de un corte correspondiente a un sujeto del grupo LF. CI) Cápsula Interna, L) Lesión. Hematoxilina fosfotúngstica. x25.



FIGURA # 16. Corte correspondiente a un sujeto del grupo RP. L) Zona lesionada en la Cápsula interna y M) Macrófagos. Hematoxilina fosfotúngstica. x100.

XI. DISCUSION

Los resultados obtenidos en este estudio indican que si fué posible la caracterización conductual de la Recuperación Funcional Pasiva; tal y como lo encontraron Cardona y Varela (1985), Miranda (1986), Palacios (1987) y Escalante y Márquez (Tesis de Licenciatura, en preparación), se observó una disminución en el largo de la zancada después de provocar la lesión en los grupos experimentales. Sin embargo, en el caso de este experimento, tal disminución se vió también en el grupo C. Hay que mencionar que éstos autores trabajaron con ambiente estándar y pobre en estimulación de los movimientos. Los patrones de marcha normal o los de la patológica se mantienen antes y después de efectuada la lesión, respectivamente, siendo incluso posible la identificación de indicios de recuperación funcional durante el seguimiento. El patrón de la marcha normal también es posible verificarlo en el grupo C, aunque el largo del paso se acorte. Estos hechos conducen más bien a suponer que el acortamiento del paso es, en el presente caso, consecuencia del ambiente enriquecido.

Palacios (1987) encontró que el modelo del largo del paso normal con el análisis de regresión polinomial era una curva que tiende a ser lineal, durante el periodo de LB se encontró tal tendencia en los grupos C, LF y RP, y también se encontró que después de efectuada una intervención, el modelo se hace sinusoidal, cosa que también concuerda con este autor. La tendencia de la curva a ser lineal nuevamente en el periodo de PT o de seguimiento, es considerada como un indicador de recuperación, sin embargo, durante la LB los grupos TF y TV presentan una forma sinusoidal aún sin haber recibido manipulación experimental alguna, por lo que se podría suponer que esta tendencia es normal en algunos casos, y que concuerda con la recuperación funcional observada después del implante, tomando a los grupos como su propio control.

El ancho del paso se mantuvo como una función lineal, que es en realidad lo que se ve en todas las gráficas presentadas en los resultados, las variaciones solamente se observaron en cuanto al grado del polinomio. Palacios (1987) atribuye al ancho del paso la función en torno a la cual se hacen los demás movimientos de alternación de las extremidades del animal y aunque se alteren aquellas extremidades con las cuales se ha de ejercer el apoyo, el ancho del paso es una función que se mantiene constante y con respecto a la cual se ejerce el desplazamiento.

El Ángulo puede ser considerado como el parámetro más representativo para hacer inferencias sobre los efectos de la lesión y las subsecuentes evidencias de recuperación. El mismo autor encontró que el comportamiento del ángulo es sinusoidal en condiciones normales y posee una tendencia hiperbólica en el caso de existir una lesión, por lo tanto, la acentuación de la primer tendencia se puede considerar como un indicio de recuperación funcional; con los resultados aquí obtenidos se encontró la misma situación: durante la LB todos los grupos presentan un comportamiento sinusoidal, pero una

vez efectuada la intervención sobre los grupos experimentales se observó la forma hiperbolar característica de la lesión; solamente en los grupos RP y TF se ve la recuperación y la tendencia a esta durante el periodo de PT, respectivamente. Se observa que la intervención de LF también provocó daño, como lo demuestra el comportamiento de su gráfica PL. Esto implica que la simple introducción de la cánula en la CI produce una lesión verdadera. Los grupos LF y TV no presentaron el sinusoide característico, más bien permanecieron con el comportamiento hiperbolar, el primero con muy ligeros cambios y el segundo se mantuvo igual.

A diferencia de la variable anterior, el tiempo de nado parece que presenta una tendencia hiperbólica que después se hace sinusoide, como se observó en el grupo control y en los grupos experimentales, es visible en las gráficas que la lesión no interfiere con la ejecución de la prueba, ya que todas muestran el mismo comportamiento que el del grupo C. Como se recordará, en esta prueba solamente se tomó el tiempo que tardó el animal en cruzar a nado la piscina, por lo que se hace necesario tratar de tomar otros parámetros para lograr un análisis más fino. Estos pueden ser: el número de patadas que el animal da para alcanzar la otra orilla, el ángulo de torsión del cuerpo en cada patada con respecto a un plano de éste y los componentes geométricos de la posición de las patas usadas para nadar. Se observó que el animal utiliza básicamente las extremidades posteriores para ganar impulso, además de que también utiliza la cola como auxiliar de estas, de tal manera que se observa una torsión característica del cuerpo. Esto constituiría un análisis más fino porque sería posible observar qué tipo de movimientos hace el animal durante la ejecución de la tarea y como se modifican después de la lesión.

No fué posible la caracterización anatómica partiendo únicamente de las evidencias histológicas disponibles. Con respecto al grupo TV no se observó sobrevivencia de las neuronas transplantadas dentro del tejido huésped; sin embargo, los animales se recuperaron, aunque en menor medida que los grupos RP y TF. Esto sugiere que al momento de efectuar el trasplante se provocó una lesión accesoría a la anteriormente practicada, ya que el ángulo del paso durante el periodo PT presenta una tendencia a la recuperación, pero no la alcanza aún después de aproximadamente tres meses después de efectuado el implante. Aquí aparecen algunas preguntas importantes: si los mecanismos de recuperación son disparados después del daño cerebral ¿Cuántas veces pueden serlo? ¿Qué periodo de tiempo deberá de pasar entre dos lesiones para que tales mecanismos se disparen? ¿Será posible dañar a intervalos regulares de tiempo a un animal y que éste presente siempre signos de recuperación?. La evidencia clínica demuestra que esto último no es cierto, como pueda observarse en los casos de la enfermedad de Parkinson; donde las neuronas dopaminérgicas sobrevivientes al daño compensan el déficit hasta llegar un momento en el cual ya no es posible esto y la enfermedad se declara. En cuanto

al hecho de la no sobrevivencia del injerto, es posible argumentar que fue debido a que la técnica de disociación no fue llevada a cabo correctamente. Dunnett y Björklund (1990) hicieron estudios en los cuales utilizaron diferentes tipos de tejido nervioso fetal, particularmente primordios de hipocampo, cuerpo estriado y tallo cerebral. Encontraron que no todos ellos fueron resistentes al daño mecánico del pipeteo durante la disociación y menos al uso de la tripsina durante el proceso de la digestión enzimática para poder separar las células. También encontraron que el grado de resistencia fue variable para cada grupo de neuronas, estos autores concluyeron que es posible que otras zonas del cerebro sean más o menos resistentes tanto a la tripsinización como al daño mecánico durante el pipeteo, además con las neuronas fetales que mueren de anoxia, aunque esto sucede en un menor grado. Es posible entonces que en este experimento las neuronas injertadas ya hayan ido muertas al momento de introducirse, ya sea por efecto de la tripsina o por las repetidas pipeteadas a las que se les sometió para hacer la disociación. Para evitar esto, se sugiere el uso de tinciones vitales para medir sobrevivencia celular antes de hacer el trasplante, esto asegurará el estado de las neuronas y además será posible realizar incluso una estimación cuantitativa de células vivas al momento del injerto y después del sacrificio del huésped. Se sugiere también hacer una réplica del trabajo de Dunnett y Björklund (1990) utilizando primordios de corteza motora y así obtener los estándares de laboratorio específicos para este tipo de tejido embrionario. Se hará mención de que en el LPCyPA este trabajo está en preparación.

Para finalizar, discutiremos con base en el trabajo histológico de los diferentes grupos: se mencionó que el grupo LF presentó secuelas después de efectuada la lesión, y los cortes histológicos así lo confirman, ya que junto a la cicatriz y dentro de ella hay una población densa de macrófagos lo que indica que la respuesta inflamatoria no había pasado del todo en el momento de la perfusión, aproximadamente cinco meses después de practicada la lesión falsa. Según Lindsay (1986), la respuesta al daño puede ser dividida en cinco etapas, por orden de desarrollo: 1) Actividad fagocítica prolongada por parte de las células de la microglia, 2) Hipertrofia de los astrocitos seguida de una proliferación amitótica de estas células, 3) Alinación de astrocitos fibrosos en forma radial alrededor de la herida, 4) Formación de un núcleo de tejido conectivo, compuesto principalmente de colágena, seguida finalmente por 5) Contracción de la herida para formar una cicatriz. A todo este conjunto de eventos que ocurren en el cerebro después del daño se le conoce como "Gliosis reactiva". La actividad fagocítica observada en las laminillas de todos los grupos experimentales puede provenir no solamente de la microglia, sino que también proviene de elementos de origen hematopoyético. Coffey y cols. (1990), demostraron la presencia de macrófagos de origen hematopoyético en el septum dañado con ácido iboténico en ratas. Incluso sugirieron que estas células, además de limpiar de desechos la zona de la

lesión, provocaban también daño axonal. También sugirieron que la respuesta inflamatoria está acompañada de pérdida de mielina y rompimiento de la barrera hematoencefálica en la región de la lesión. Los macrófagos que se observaron en las zonas de lesión practicadas en las ratas de este experimento son células grandes de forma irregular y el citoplasma está lleno de gránulos. Estos macrófagos no se parecen a las células de la microglia, ya que son células grandes, mientras que las células de la microglia son, según Leeson y Leeson (1984, 1986) células pequeñas, semejantes a los fibroblastos, con núcleos reniformes y alargados y presentan gránulos de cromatina distribuidos ampliamente por el carioplasma. Presentan además dos o más prolongaciones citoplásmicas cortas. El grupo RP no presentó una cavidad y sí una parcial presencia de macrófagos. La apariencia de la lesión de éste grupo es similar a la del grupo LF, esto indica que no hay una diferencia entre la simple introducción de la cánula y la introducción y succión del tejido. Los grupos TF y TV presentaron en muchos casos más de una cicatriz, lo que soporta la suposición de la "doble lesión" que se les provocó y explica el hecho de que en ambos periodos de registro, PL y PT, solamente muestran una tendencia a la recuperación y no una recuperación total o parcial. Ambos grupos presentan abundancia de macrófagos adyacentes a las zonas por donde pasó la cánula, por lo que el proceso de cicatrización estaba en una etapa más temprana que en los otros grupos experimentales. Si fué posible, aunque también parcialmente, medir los efectos del daño y de las variables que inducen la recuperación de funciones perdidas después del daño cerebral con la aplicación de la batería de pruebas, diseñada para este propósito.

XII. CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede concluir que:

- a) Los cambios observados, tanto después del daño como durante la recuperación son de tipo cualitativo en condiciones de ambiente enriquecido.
- b) El largo del paso no solo se comporta como una función lineal en condiciones normales, sino que también puede mostrar una tendencia sinusoidal en las condiciones ambientales utilizadas en este trabajo.
- c) Debido a lo anterior, las comparaciones conductuales deben hacerse tomando a cada grupo como su propio control.
- d) El efecto de la lesión sobre el ancho del paso puede estar enmascarado debido al desarrollo normal de la rata y a las condiciones ambientales, ya que este parámetro se modifica ligeramente.
- e) El ángulo del paso es el parámetro más confiable para la evaluación del daño y de la recuperación, porque engloba al largo y al ancho del paso en una sola función.
- f) La simple introducción de la cánula en la Cápsula Interna sin succionar el tejido tiene efectos similares a los de la lesión con succión de tejido.
- g) La recuperación funcional pasiva puede verse ya 75 días después de efectuando el daño bajo condiciones de ambiente rico.

XIII. APÉNDICE.

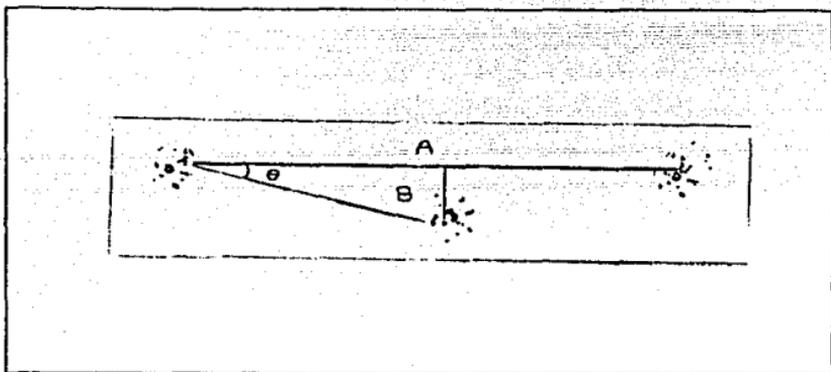
1. Cálculo del ángulo del paso.

Sean los parámetros:

A= Largo del paso

B= Ancho del paso

Θ = Ángulo del paso



Se desea obtener una relación entre A y B para calcular Θ . Según el esquema 1, ésta es una función trigonométrica. En tal caso, se tiene como parámetros conocidos el lado adyacente ($A/2$) y el lado opuesto (B). Así entonces, las razones trigonométricas posibles a utilizar serán:

$$\tan \Theta = \text{Lado opuesto/lado adyacente} \dots\dots 1$$

$$\cot \Theta = \text{Lado adyacente/lado opuesto} \dots\dots 2$$

Como se ve, 1 y 2 son cofunciones una de la otra. En éste trabajo, se utilizó la razón 1. Sustituyendo:

$$\tan \Theta = B/(A/2) = 2B/A \dots\dots\dots 3$$

Se despeja Θ :

$$\Theta = \text{arc tan } (2B/A) \dots\dots\dots 4$$

que fué la ecuación utilizada para calcular el ángulo del paso en este reporte.

2. Protocolo de cirugías.

Se describe a continuación el método que se siguió para realizar las cirugías de lesión y de transplante:

1.- Primero se pesó el organismo para calcular la cantidad de pentobarbital sódico que se inyectaría, tomando como base (0.4 ml/Kg), la inyección fue peritoneal.

2.- Ya anestesiado el organismo se afeitó la parte superior de la cabeza, desde la región que queda entre los ojos hasta más atrás de las orejas.

3.- Se colocó el organismo con las barras estereotáxicas en el mento auditivo del oído, además de montar los dientes del animal sobre la barra para los incisivos, asegurándose que la cabeza del animal estuviera montada apropiadamente y sin ningún movimiento.

4.- Se realizó una incisión ligeramente atrás de los ojos y sobre la línea media de los mismos hasta dejar visibles las uniones de la línea media y bregma, para tomarlas como puntos de referencia estereotáxica.

5.- Se colocó una cánula en una de las torres estereotáxicas en el cruce de estas dos líneas, se tomó la lectura antero-posterior y lateral, restandoles 1 y 3.5 mm respectivamente, se marcó el nuevo cruce y en esto se realizó un trépano con una broca de motor de baja velocidad, se tomó la lectura de profundidad teniendo como punto de referencia a la duramadre. A esta nueva medida se le restaron 7.3 mm para llegar a la Capsula Interna. Se usó como guía el atlas estereotáxico de Pellegrino y Cushman (1963).

6.- En el caso del grupo Lesión Falsa (LF) sólo se introdujo una vez la cánula y extrajo, en el caso de los grupos Recuperación Pasiva (RP), Transplante Falso (TF) y Transplante Verdadero (TV) se introdujo la cánula y se succionó el tejido, si en la primera succión no se obtenía tejido, se efectuaba una segunda succión en la misma zona. Después de la cirugía de lesión se dejó al sujeto 3 días en recuperación para continuar con los registros de post-lesión.

7.- Para los grupos (TF) y (TV) a los cuales se les realizó una segunda cirugía de transplante se seguía el mismo método para la localización de la Capsula Interna, al grupo (TF) se inyectaba 10 μ l de solución salina y al grupo (TV) se transplantaba 10 μ l de tejido neural embrionario en suspensión. Después de la cirugía de transplante se les dejó 3 días en recuperación para continuar con los registros post-transplante.

3. Método de disociación de tejido neural embrionario según Fishback (1972) descrito por Schmidt y cols. (1981).

Se describe a continuación el método mediante el cual fue preparada la suspensión de neuronas fetales:

Después de realizada la cesárea, los fetos fueron colocados en un riñón metálico y lavados con solución salina-glucosa 5% (Beclysil); posteriormente se extrajo el cerebro a cada uno de los embriones y se diseccionó la corteza motora. Todo este proceso duró aproximadamente 45 minutos. Las piezas fueron colectadas en tubos de ensayo con solución salina-glucosa 6% (Dextrabot) estéril a temperatura ambiente. Fueron entonces incubados a 37 °C durante 20 minutos en solución salina-glucosa al 6% y tripsina al 0.1%. Pasado éste tiempo, la tripsina fue lavada de los tejidos mediante la inmersión de éstos en cuatro cambios de solución salina-glucosa. El tejido fue entonces disociado pipeteando repetidamente con pipetas Pasteur pulidas al fuego. La suspensión obtenida se mantuvo en la solución salina-glucosa a la temperatura ambiente aproximadamente dos horas, tiempo durante el cual se tomaron alicuotas para su implante.

4. Técnica de perfusión cardíaca.

1.- Se anestesió al animal con una sobredosis letal de pentobarbital (0.025 g por Kg de peso del animal).

2.- Tan pronto como el animal estuvo quirúrgicamente anestesiado, se realizó una incisión de 2 a 4 cm de largo a través de la piel y a lo largo del lado izquierdo del esternón.

3.- Se levantó la piel hacia un lado del esternón.

4.- Se realizó una incisión lateral a lo largo del borde inferior de la caja torácica y se levantó ésta, dejando el corazón al descubierto, cortando el colgajo.

5.- Al estar expuesto el corazón, se sujetó el extremo inferior del ventrículo derecho con unas pinzas de dientes de ratón y se realizó una incisión, a fin de drenar toda la sangre venosa que estaba entrando a la caja torácica.

6.- Se inyectaron 500 ml de solución salina fisiológica dentro del ventrículo izquierdo, para expulsar la mayor parte de la sangre que se encontraba en el corazón y en el cerebro.

7.- Se inyectó 500 ml de formol buffer dentro del ventrículo izquierdo, para aprovechar el aparato circulatorio y fijar el cerebro.

8.- Después de terminarse la perfusión, se decapitó al animal para extraer el cerebro conservándolo en el fijador por espacio de dos semanas.

5. Técnica de inclusión en parafina.

Los pasos utilizados para lograr la inclusión de los cerebros de los sujetos experimentales de este trabajo en parafina fueron los siguientes:

1.- Deshidratación. La deshidratación se logró utilizando alcohol al 96% y alcohol absoluto con tres cambios en cada alcohol con una duración de treinta a cuarenta minutos en cada uno.

2.- Impregnación por medio de un disolvente de la parafina. Se substituyó el alcohol deshidratante por un disolvente de la parafina. El disolvente ocupado en este trabajo fue xilol. Este paso inició una vez que se terminó el último cambio de alcohol absoluto; consistió en tres baños sucesivos de treinta a cuarenta y cinco minutos cada uno.

3.- Se sumergieron tres veces las piezas en parafina a 56°; y permanecieron de treinta a cuarenta y cinco minutos en cada cambio. En los dos primeros se logró la evaporación del disolvente de la parafina y en la tercera la completa penetración en todas las células del tejido.

4.- Inclusión definitiva. El tejido se colocó en parafina fundida contenida dentro de moldes y se orientó de la manera deseada.

Los cortes de esta inclusión se realizaron con el micrótopo de deslizamiento. Se recogieron en un baño con agua caliente (entre 40 y 45 °C), sobre el cual se extendieron estos cortes; se colocaron sobre la superficie de un portaobjetos y se secaron entre dos hojas de papel filtro. Los portaobjetos con el corte se colocaron en una estufa a una temperatura de 55 o 56 °C durante dos o tres horas, para lograr su fijación. Después se lavaron con xilol para quitar el exceso de parafina y se tiñeron.

XIV. REFERENCIAS.

- Adams, R.D. (1970). Parálisis motora. In Medicina interna. Harrison et al. (Ed.) Prensa Médica Mexicana.
- Aguilar, R.R., Mendoza, R.J.L. & Drucker, C.R. (1991). Desarrollo y funcionalidad de los trasplantes de tejido nervioso. Ciencias. No. Esp. 5: 41-49.
- Allobelli, R. (1914). Innessi cerebrali. grazz. Int. Med. Ghir. 17: 25-34.
- Aoki, C., & Sickevitz, P. (1988). Plasticity in brain development. Sci. Am. Dec. 34-42.
- 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. Vienna: Hans Huber. 225-263 pp.
- Backlund, E.O., Gransberg, P.O., Hamberger, B., Sedvil, G., Seiger, A. & Olson, L. (1985). Transplantation of adrenal medullary tissue to striatum in parkinsonism. In: Neural grafting in the mammalian CNS. A. Bjorklund & U. Stenevi (Eds.), Elsevier, Amsterdam. 551-556 pp.
- Baldwin, J.M. & Poulton, E.B. (1902). Plasticity. In J.M. Baldwin (Ed.), Dictionary of philosophy and psychology (Vol. 2). N.Y.: Peter Smith.
- Balliet, R., Shinn, J.B. & Bach-y-Rita, P. (1981). Facial paralysis rehabilitation: retraining selective muscle control. Int. Rehab. Med. 4: 67-74
- Barker, C.F. & Billingham, R.E. (1977). Immunologically privileged sites. Adv. Immunol. 25: 1-54.
- Barr, M.L. (1974). The human nervous system. Harper & Row. USA. 408 pp.
- Basmajian, J.V. (1974). Muscles alive their functions revealed by electromiography. Baltimore: Williams & Wilkins.

XIV. Referencias.

- Bennett, E.L. & Rosenzweig, M.R. (1979). Brain plasticity, memory and aging. In: Physiology and cell biology of aging. (Aging, vol 8), Cheung, et al. (Eds). Raven Press, N.Y. 141-150.
- Bermúdez, R.F., Fernández, M.A., Sánchez, R., Aguilar, R.R. & Drucker, C.R. (1987). Fetal brain transplants induce recuperation of taste aversion learning. Brain Res. 416: 147-152.
- Björklund, A., Dunnett, S.B., Stenevi, U., Lewis, M.E., & Iversen, S.D. (1980a). Reinnervation of the denervated striatum by substantia nigra transplants: functional consequences as revealed by pharmacological and sensorimotor testing. Brain Res. 199: 307-33.
- Björklund, A., Stenevi, U., & Svendgaard, N.A. (1976). Growth of transplanted monoaminergic neurones into the adult hippocampus along the perforant path. Nature. 262: 787-790.
- Björklund, A., Schmidt, H., & Stenevi, U. (1981). Intracerebral grafting of dissociated CNS tissue suspensions: a new approach for neuronal transplantation to deep brain sites. Brain Res. 218: 347-356
- Björklund, A., & Stenevi, U. (1977a). Experimental reinnervation of the rat hippocampus by grafted sympathetic ganglia I. Axonal regeneration along the hippocampal fimbria. Brain Res. 138: 259-270.
- Björklund, A., Stenevi, U., Dunnett, S.B., & Gage, F.H. (1982b). Cross-species neural grafting in a rat model of Parkinson's disease. Nature. 298: 652-654.
- Björklund, a., Stenevi, U., Schmidt, R.H., Dunnett, S. B., & Gage, F.H. (1983c). Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. II. Survival and growth of nigral cells implanted in different brain sites. Acta Physiol. Scand. Suppl. 522: 11-22.
- Björklund, A., & Stenevi, U. (1979). Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. Brain Res. 177: 555-60
- Björklund, A., Schmidt, F.H., Stenevi, R.H. & Dunnett, S.B. (1983a). Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. VII. Recovery of choline acetyltransferase activity and reinnervated by septal suspension implants. Acta Physiol. Scand. Suppl. 522: 59-66.

- Björklund A. & Stenevi, U. (1984). Intracerebral neural implants: neuronal replacement and reconstruction of damaged circuitries. Ann. Rev. Neurosci. 7: 279-308.
- Bohn, M.C., Dupit, L., Marciano, F. & D.M. Gash. (1987). Adrenal medulla grafts enhance recovery of striatal dopaminergic fibers. Science. 237: 913-916.
- Bragin, A.G. & Vinogradova, O.S. (1981). Homo- and hetero-specific transplantation of embryonal central nervous system. Bull. Exp. Biol. Med. 10: 486-489.
- Brown, M.C., Holland, R.L. & Hopkins, W.G. (1981). Motor nerve sprouting. Ann. Rev. Neurosci. 4: 17-42.
- Brudny, J., Korein, J., Grynbaum, K.L., Friedman, L.W., Weinstein, S., Sach-Frankel, G., & Belanders, P.V. (1976). EMG. Feedback therapy review of treatment of 114 patients. Arch. Phys. Med. Rehabil. 57: 55-61
- Cardona, S. A. & Varela, R. C. (1985). Efectos de la restricción de movimiento sobre la hemiplejía experimental en ratas. Bachelor's dissertation. México. Facultad de Psicología. UNAM.
- Connor, J.R., Diamond, M.C., Connor, J.A. & Johnson, R.E. (1981). A Golgi study of dendritic morphology in the occipital cortex of socially reared aged rats. Exp. Neurol. 73: 525-533.
- Connor, J.R., Diamond, M.C. & Johnson, R.E. (1980). Occipital cortical morphology of the rat, alterations with age an environment. Exp. Neurol. 68: 158-170.
- Connor, J.R., Melone, J.H., Yuen, A.R. & Diamond, M.C. (1981). Dendritic length in aged rats' occipital cortex and environmentally induced response. Exp. Neurol. 73: 827-830.
- Cotman, C.W. & Nieto-Sampedro, M. (1982). Brain function sinapse renewal and plasticity. Ann. Rev. Psychol. 33: 371-401.
- Cotman, C.W. & Anderson, K.J. (1989). Neural plasticity and regeneration. In G. Seigel, B. Agranoff, R.W. Alberts and P. Molinoff (Eds.). Basic Neurochemistry. Raven Press. New York. 507-522 pp.

- Cotman, C.W. & Scheff, S.W. (1979). Compensatory synapse growth in aged animals after neuronal death. Med. Aging Dev. 9: 103-117.
- Crutcher, K.A. & Collins, F. (1982). In vitro evidence for two distinct hippocampal growth factors: basis of neural plasticity?. Science. 217: 67-68.
- Del Conte, G. (1907). Einpflanzungen von embryonalem gewebe ins gehirn. Beitr. Pathol. Anat. Allg. Pathol. 42: 193-210.
- Dotwiler, S.R. (1936). Neuroembryology: an experimental study, New York: Macmillan.
- Drucker, C.R. et al. (1984). Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: diurnal rhythm recovery of lesioned rats. Brain Res. 311: 353-357.
- Dunn, E.H. (1917). Primary and secondary findings in a series of attempts to transplant cerebral cortex in albino rat. J. Comp. Neurol. 27: 565-582.
- Dunnett, S.B., Low, W.C., Iversen, D., Stenevi, U. & Bjorklund A. (1982). Septal Transplants restore maze learning rats with fornix fimbria lesions Brain Res. 251: 335-348.
- Dunnett, S.B., G.H. Gage, A. Bjorklund, U., Stenevi, W.C. Low & Iversen, S.D. (1982b). Hippocampal denervation: transplant-derived reinnervation and functional recovery. Scand. J. of Psychol., suppl. 1: 104-111.
- Dunnett, S.B., Ryan, C.N., Levin, P.D., Reynolds, M. & Bunch, S.T. (1987). Functional consequences of embryonic neocortex transplanted to rats with prefrontal cortex lesions. Behav. Neurosci. 101(4): 489-503.
- Dunnett, S.B., Whishaw, I.Q., Bunch, S.T. & Fine, A. (1986). Acetylcholinergic 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.

- Ebendal, T., Olson, L., Seiger, A. & Hedlund, K.O. (1980). Nerve growth factors in the rat iris. Nature, 286: 25-28.
- Farreras, V.P., & Rozman, C.(1976). Medicina interna. Marín, S.A., México.
- Ferchmin, P.A. & Eterovic, V.A. (1980). Four hour of enriched experience are sufficient to increase cortical weight of rats. Soc. of Neurosci. Abstracts, 6: 857.
- Fernández, R.J. (1987). Transplantes de tejido cerebral inducen recuperación del condicionamiento aversivo a los sabores en ratas. Bachelor's dissertation, México. Investigación Biomédica Básica. UNAM.
- Fischbach, 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 lesion-induced rotation by intraventricular substantia nigra and adrenal medulla grafts, with a note on intracranial retinal grafts. Biolog. Psych. 18(11): 1205-1267.
- Freed, W.J., Hoffer, B.J., Olson, L. & Wyatt, R.J. (1984). Transplantation of catecholamine-containing tissue to restore the functional capacity of the damaged nigrostriatal system. In: J.R. Sladek Jr. and D.M. Gash (Eds.), Neural transplants, development and function. Plenum, N.Y./London. 373-406 pp.
- Frotscher, M., Buck, E., Mannsfeld, B., & Wenzel, J. (1970). Zur frage der regeneration des cortex cerebri nach replantation eines cortex-abschnittes bei Rattus norvegicus B. J. Hirnforsch. 33: 123-133.
- Gash, D., Sladek, J.R., & Sladek, C.D. (1980). Functional development of grafted vasopresin neurons. Science, 210: 1367-69.
- Gaze, R.M., & Watson, W.E. (1968). Cell division and migration in the brain after optic nerve lesions. In: G.E.W. Wolstenholme, M. O'Connor (Eds.). Growth of the Nervous System. London: Churchill. 53-67 pp.

Gloes, P. (1955). Studies of cortical regeneration with special reference to cerebral implants. In: W.F. Windle (Ed.). Regeneration in the Central Nervous System. Springfield: Thomas. 94-111 pp.

Goldman, P.S. & Lewil, M.E. (1978). Developmental biology of brain damage and experience. In: Cotman, C.W.(Ed). Neural Plasticity. Raven Press, N.Y. 291-310 pp.

Goldstein, G.W. & Betz, A.L. (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. N.Y.: Academic Press.

Green, E.J., Greenough, W.T. & Schlumpf, B.E. (1983). Effects of complex or isolated environments on cortical dendrites of middle-aged rats. Brain Res. 264: 233-240.

Greenough, W.T. (1976). Enduring brain effects of differential experience and training. In: Rosenzweig, M.R. and Bennett, E.L. (Eds.). Neural Mechanisms of Learning and Memory. Mitt Press. Cambridge. 255-278 pp.

Harvey, A.R. & Lund, R.D. (1981). Transplantation of tectal tissue in rats. II. Distribution of host neurons which project to transplants. J. Comp. Neurol. 202: 505-520.

Hruska, R.E. & Silbergeld, E.K.(1979). Abnormal locomotion in rats after bilateral intrastriatal injection of Kainic acid. Life Sci. 25: 181-194.

Hruska, R.E., Kennedy S., & Silbergeld E.K. (1979a). Quantitative aspects of normal locomotion in rats. Life Sci. 25: 171-180.

Inoue, H.S. Kohsaka, K. Yoshida, M. Ohtami, S. Toya & Tsukada, Y. (1985b). Immunohistochemical studies on mouse cerebral cortex grafted into the third ventricle of rats treated with cyclosporin-A. Neurosci. Lett. 57: 289-294.

Jacobson, M. & Levine, R.L. (1975a). Plasticity in the adult frog brain: Filling the visual scotoma after excision or translocation of parts of the optic tectum. Brain Res. 88: 339-345.

XIV. Referencias.

- Jacobson, M. & Levine, R.L. (1975b). Stability of implanted duplicate tectal positional markers serving as targets for optic axons in adult frogs. Brain Res. 92: 468-471.
- Jaeger, C.B. & Lund, R.D. (1980b). Transplantation of embryonic occipital cortex to the tectal region of newborn rats: a light microscopic study of organization and connectivity of the transplants. J. Comp. Neurol. 194: 571-597.
- Jaeger, C.B. & Lund, R.D. (1980a). Transplantation of embryonic occipital cortex to the brain of newborn rats. Exp. Brain Res. 40: 265-272.
- Juraska, J.M., Greenough, W.T., Elliot C., Mack, K.J. & Berkowitz, R. (1980). Plasticity in adult rat visual cortex: an examination of several cell populations after differential rearing. Behav. and Neural Biol. 29: 157-167.
- Kao, C.C., Shimizu, Y., Perkins, S.C., & Freeman, L. W. (1970). Experimental use of cultured cerebellar cortical tissue to inhibit the collagenous scar following spinal cord transection. J. Neurosurg. 33: 127-139.
- Kaplan, M.S. (1988). Plasticity after brain lesions: contemporary concepts. Arch. Phys. Med. Rehabil. 69: 984-990.
- Kelly, P.A.T., Gage, F.H., Ingvar, M., Lindvall, O., Stenevi, U., & Björklund, A. (1985). Functional reactivation of the deafferented hippocampus by embryonic septal grafts as assessed by measurements of local glucose utilization. Exp. Brain Res. 58: 570-579.
- Kerlinger, F. (1975). Investigación del comportamiento. Técnicas y metodología. Interamericana, México.
- Kolata, G. (1982). Graft correct brain damage. Science. 217(23): 342-344.
- Kolb, B., & I.Q. Whishaw. (1986). Fundamentos de neuropsicología humana. Labor. Barcelona. 715 pp.
- König, J.F., & Klippel, R.M. (1968). The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore Williams & Wilkins.

- Kolata, G. (1982). Graft correct brain damage. Science, 217(23): 342-344.
- Kolb, B., & I.Q. Whishaw. (1986). Fundamentos de neuropsicología humana. Labor. Barcelona. 715 pp.
- König, J.F., & Klippel, R.M. (1968). The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore Williams & Wilkins.
- Konorsky, J. (1948). Conditioned reflexes and a neural organization. London Cambridge University Press.
- Kromer, L.F., Björklund, A., & Stenevi, U. (1983). Intracerebral neural implants in the adult rat brain. I. Growth and mature organization of brain stem, cerebellar and hippocampal implants. J. Comp. Neurol. 218: 433-59.
- Kromer, L.F., & Björklund, A. (1979). Embryonic neural transplants provide model system for studying development and regeneration in the mammalian CNS. Multidisciplinary Approach to Brain Research. Benedetta Editors. 409-428.
- Lashley, K.S. (1938). The mechanism of vision. XV: preliminary studies of the rat's capacity for detail vision. J. Genet. Psychol. 18: 123-193.
- Leeson, C.R., Leeson, T.S. & Paparo, A.A. (1986). Atlas de histología. Ed. Interamericana. México, D.F.
- Leeson, C.R. & Leeson, T.S. (1984). Histología. Ed. Interamericana. México, D.F.
- Lerner, M.R. (1984). On the nature of human plasticity. Cambridge University Press. U.S.A. 62-70 pp.
- 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.
- Levine, R., & Jacobson, M. (1974). Deployment of optic nerve fibers is determined by positional markers in the frog's tectum. Exp. Neurol. 43: 527-538.

- Lewis, E.R., & Cotman, C.W. (1983). Neurotransmitter characteristics of brain grafts: striatal and septal tissues form the same laminated input to the hippocampus. Neurosci, 8: 57-66.
- 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.
- López, A.L. (1986). Anatomía funcional. Sistema nervioso. Limusa. México. D.F.
- Low, W.C., Lewis, P.R., Bunch, S.T., Dunnett, S.B., Thomas, S.R., Iversen, S.D., Björklund, A., & Stenevi, U. (1982). Functional recovery following neural transplantation of embryonic septal nuclei in adult rats with septohippocampal lesions. Nature, 300: 260-62.
- Low, C.W., Lewis, P.R., & Bunch, S.T. (1983). Embryonic neural transplants across a major histocompatibility barrier: survival and specificity of innervation. Brain Res, 262: 328-333.
- Lund, R.D., & Simons. (1985). Retinal transplants: structural and functional interrelations with the host brain. In Neural grafting in the mammalian SNC Björklund, A., & Stenevi, U. editors. Elsevier Science Publishers.
- Luria, R.A. (1974). El cerebro en acción (I). Orbis. Barcelona. 221 pp.
- Luria, R.A. (1978). Cerebro y lenguaje. Fontanela. Madrid.
- Marx, J.L. (1982). Transplants as guides to brain development. Science, 217(23): 340-342.
- Matthey, R. (1926). Lagriffe de l'oeil. Etude expérimentale de la greffe de l'oeil chez le Triton (Triton cristatur) Arch. Wicklungsmech. Org. 109: 326-341.
- McConnell, S.K. (1985). Migration and differentiation of cerebral cortical neurons after transplantation into the brains of ferrets. Science, 229: 1268-1271.
- Miranda, R.M. (1986). Efectos de la deficiencia proteica sobre la recuperación de funciones perdidas por el daño cerebral motor. Bachelor's dissertation. México. Facultad de Psicología. UNAM.

- Mollgard, K., Lundberg, L.J., Beebe, B.K., Bjorklund, A., Stenevi, U. (1978). The intracerebrally cultured "microbrain": A new tool in developmental neurobiology. Neurosci. Lett. 8: 295-301.
- Moore, J. (1980). Neuroanatomical considerations relating to recovery of function following brain injury. In: Bach-y-Rita, P. (Ed). Recovery of Function: Theoretical considerations for brain injury rehabilitation. Switzerland: Hans Huber.
- Mullenix, P., Norton, S., & Culver, B. (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.
- Nakashima, H., Kawamura, K., & Date I. (1988). Immunological reaction and blood-brain barrier in mouse-to-rat cross-species neural graft. Brain Res. 475: 232-243.
- Nieto-Sampedro, M., & Cotman, C.W. (1985). Synaptic plasticity. New York: Guilford Press. 407-455 pp.
- Nieto-Sampedro, M., Lewis, E.L., Cotman, C.W., Munthorpe, M., Skaper, S.D., Barbin, G., Longo, F.M., & S. Varon. (1982). Brain injury causes a time-dependent increase in neuronotrophic activity at the lesion site. Science. 217(27): 860-861.
- Nilsson, O.G., Brundin, P., Widner, H., Strecker, R.E., & Björklund, A. (1988). Human fetal basal forebrain neurons grafted to the denervated rat hippocampus produce an organotypic cholinergic reinnervation pattern. Brain Res. 456: 193-198.
- Noback, C.R., & Demarest, R.J. (1980). Sistema nervioso humano. Fundamentos de neurobiología. McGraw Hill, México.
- Palacios, V.J.J., Corral, V., Miranda, R., & Varela, R. (1981). Modelos experimentales de daño cerebral. Acta Psicológica Mexicana. 1: 25-42.

- Palacios, V.J.J. et al. (1987). Consideraciones teórico prácticas para la investigación en el area del daño cerebral. Acta Psicológica Mexicana, 3(1): 45-54.
- Palacios, V.J.J. (1987). Medición de las secuelas de la hemiparesia experimental. Master degree dissertation. México. Facultad de Psicología, UNAM.
- Pearlson, G.D., & Robinson, R.G. (1981). Suctions lesions of the frontal cerebral cortex in the rat induce asymetrical behavioral and catecholaminergic responses. Brain Res. 218: 233-242.
- Perlow, M.J., & Freed, W.J. (1979). Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. Science, 204(11): 643-646.
- Perlow, M.J., Freed, W.J., Hoffer, B.J., Seiger, A., Olson, L., & Wyatt, R.J. (1979). Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. Science, 204: 643-47.
- Piatt, J. (1940). Nerve-muscle specificity in Amblystoma, studied by means of heterotopic cord grafts. J. Exp. Zool. 85: 211-241.
- Raisman, G., & Field, R.M. (1973). A quantitative investigation of the development of collateral reinnervation after partial deafferentation of septal nuclei. Brain Research, 50: 241-264.
- Raju, S., & Grogan, J.B. (1977). Immunologic study of the brain as a privileged site. Transplant Proc. 9: 1187-1191.
- Ranson, S.W. (1914). Transplantation of the spinal ganglion, with observations on the significance of the complex types of spinal ganglion cells. J. Comp. Neurol. 24: 547-558.
- Reyes, P. (1987). Bioestadística aplicada. Trillas, México.
- Rosenzweig, M.R., Bennett, E.L., & Diamond, M.C. (1972). Brain changes in response to experience. Am. Sci. 226 (2): 22-29.
- Rosenzweig, M.R., & Leiman, A.L. (1982). Physiol. Psychol. D.C. Hest and Company. 668-674.

- Saltykow, S. (1905). Versuche über Gehimplantation, zugleich ein Beitrag zur Kenntniss der Vorgänge an den zelligen Gehirnelementen. Arch. Psychiatr. Nervenkr. 40: 329-388.
- Scheff, S.W., Bernardo, L.S., & Cotman, C.W. (1978). Decrease in adrenergic axon sprouting in the senescent rat. Sci. 202: 775-778.
- Schmidt, R.H., Ingvar, M., Lindvall, O., Stenevi, U., & Björklund, A. (1982). Functional activity of substantia nigra grafts reinnervating the striatum: neurotransmitter metabolism and [¹⁴C]-2-deoxy-D-glucose autoradiography. J. Neurochem. 38: 737-48
- Schmidt, R.A., Björklund, A., & Stenevi, U. (1981). Intracerebral grafting of dissociated CNS tissue suspensions: A new approach for neuronal transplantation to deep brain sites. Brain Res. 218: 347-356.
- Sharma, S.C., & Gaze, R.M. (1971). The retinotopic organization of visual responses from tectal reimplants in adult goldfish. Arch. Ital. Biol. 109: 357-366.
- Shepherd, G.M. (1985). Neurobiología. Labor. Barcelona. 609 pp.
- Sigman, M. (1982). Plasticity in development: implications for intervention. In: Bond, L.A. & Joffe, J.M. (Eds.). Facilitating infant and early childhood development. Hanover, N.H.: University Press of New England.
- Skinner, J.E. (1976). 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.
- Sperry, R.W. (1945). Restoration of vision after uncrossing of optic nerves and after contralateral transposition of the eye. J. Neurophysiol. 8: 15-28.
- Stenevi, U., Björklund, A., Kromer, L.F., Paden, C.M., Gerlach, J.L., McEwen, B. S., & Silverman, A. J. (1980b). Differentiation of embryonic hypothalamic transplants cultured on the choroidal pial in brains of adult rats. Cell Tissue Res. 205: 217-228.

XIV. Referencias.

- Stenevi, U., Björklund, A. & Dunnett, S.B. (1980a). Functional reinnervation of the denervated neostriatum by nigral transplants. Pptides 1. (Supp. 1): 111-116.
- Stenevi, U., Björklund, A., & Svendgaard, N. A. (1976). Transplantation of central and peripheral monoamine neurons to the adult rat brain: Techniques and conditions for survival. Brain Res. 114: 1-20.
- Stone, L.S., & Zaur, J.S. (1940). Reimplantation and transplantation of adult eyes in the salamander (Triturus viridescens) with return of vision. J. Exp. Zool. 85: 243-270.
- Stone, L.S., & Farthing, L.S. (1942). Return of vision four times in the same adult salamander eye (Triturus viridescens) repeatedly transplanted. J. Exp. Zool. 91: 265-685.
- Stone, L.S. (1963). Vision in eyes of several species of adult newts transplanted to adult Triturus viridescens. J. Exp. Zool. 153: 57-67.
- Stone, L.S. (1944). Functional polarization in retinal development and its reestablishment in regenerated retinae of rotated eyes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 57: 13-14.
- Stranznicky, K. (1963). Function of heterotopic spinal cord segments investigated in the chick. Acta Biol. Acad. Sci. Hung. 14: 143-155.
- Stricker, E.M., & Zigmond, M.J. (1976). Progress in physiology, psychology and psychobiology. In: Sprague, J.M. & Epstein, A.E. (Eds.). Academic Press. 121 pp.
- Stromberg, I., Herrera-Marschitz, M., Ungerstedt, U., Ebendal, T., & Olson, L. (1985). Chronic implants of chromaffin tissue into the dopamine-denervated striatum. Effects of NGF on graft survival, fiber growth and rotational behavior. Exp. Brain Res. 60: 335-349.
- Sugar, O., Gerad, R.W. (1940). Spinal cord regeneration in the rat. J. Neurophysiol. 3: 1-19.
- Székely, G. (1963). Functional specificity of spinal cord segments in the control of limb movements. J. Embryol. Exp. Morphol. 11: 431-444.

XIV. Referencias.

- Székely, G. (1968). Development of limb movements: Embryological, physiological and model studies. In: G.E.W. Wolstenholme & M. O'Connor (Eds.). Growth of the Nervous System. London: Churchill. 77-93 pp.
- Thompson, W.G. (1890). Successful brain grafting. NY. Med. J. 51: 701-702.
- 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., & Tai, J. (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., & Veltman, W.A.M. (1978). Effects of differential environments on plasticity of dendrites of cortical pyramidal neurons in adult rats. Exper. Neurology. 62: 658-677.
- Uylings, H.B.M., Kuypers, K., & Veltman, W.A.M. 1978. Environmental influences in the neocortex in later life. Progress in Brain Res. 48: 261-272.
- Venable, N., Fernández, V., Díaz, E., & Pinto, H.T. (1989). Effects of prevailing environmental enrichment on basilar dendrites of pyramidal neurons in occipital cortex: a golgi study. Dev. Brain Res. 49(1): 140-144.
- Volkmar, F.R., & Greenough, W.T. (1972). Rearing complexity effects branching of dendrites in the visual cortex of the rat. Science. 176: 1445-1447.
- Wessells, N.K. (1980). Responses to cells contacts between growth cones, neurites and ganglionic non-neuronal cells. J. Neurocytol. 9: 647-664.

XIV. Referencias.

Will, B.E., Rosenzweig, M.R. & Bennett, E.L. (1976). Effects of differential environments on recovery from neonatal brain lesions, measured by problem-solving scores and brain dimensions. Physiol. Behav. 16: 603-611.

Will, B.E., & Rosenzweig, M.R. (1976). Effects de l'environnement sur la récupération fonctionnelle après lésiones cérébrales chez des rats adultes. Biol. Behav. 1: 5-16.

Will, B.E., Rosenzweig, M.R., Bennett, E.L., Herbert, M., & Morimoto, H. (1977). Relatively brief environmental enrichment aids recovery of learning capacity and alters measures after postweaning brain lesions in rats. J. Comp. Psychol. 91: 33-50.