



96
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DESARROLLO DE LA ORGANIZACION LAMINAR DE
TRANSPLANTES DE CORTEZA CEREBRAL FETAL A
RATAS ADULTAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

JOSE RICARDO HERNANDEZ PINEDA

DIRECTOR DE TESIS: DR. RAUL ANTONIO AGUILAR ROBLERO

MEXICO, D. F.

1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

| | |
|--|----|
| 1. Resumen..... | 1 |
| 2. Antecedentes generales. | |
| 2.1 Embriología general e histogénesis del Sistema Nervioso Central..... | 3 |
| 2.2 Desarrollo de la Corteza Cerebral de la rata. | |
| 2.2.1. División y proliferación celular..... | 7 |
| 2.2.2. Migración..... | 8 |
| 2.2.3. Desarrollo lamina..... | 11 |
| 2.2.4. Desarrollo columnar..... | 13 |
| 2.3 Histología de la Corteza Cerebral adulta. | |
| 2.3.1 Patrón laminar..... | 15 |
| 2.3.2 Patrón columnar..... | 18 |
| 2.4 Transplantes al Cerebro: un modelo para el estudio del desarrollo In situ del Sistema Nervioso Central..... | 20 |
| 2.4.1 Aspectos morfológic..... | 22 |
| 2.4.2 Aspectos funcionales..... | 23 |
| 3. Antecedentes específicos..... | 28 |
| 4. Objetivos específicos..... | 32 |

| | |
|---|----|
| 5. Materiales y métodos..... | 33 |
| 5.1 Histología..... | 35 |
| 5.2 Análisis..... | 37 |
| 6. Resultados. | |
| 6.1 Consideraciones generales..... | 39 |
| 6.2 Transplantes en bloque..... | 40 |
| 6.2.1 Análisis morfológico..... | 41 |
| 6.3 Transplantes disociados..... | 43 |
| 6.3.1 Análisis morfológico..... | 43 |
| 6.4 Características de las prolongaciones citoplásmicas gliales..... | 45 |
| 7. Discusión | |
| 7.1 Aspectos generales..... | 47 |
| 7.2 Citoarquitectura neuronal..... | 48 |
| 7.3 Organización Glial..... | 52 |
| 7.4 Correlación Neurono-glial..... | 53 |
| 7.5 Implicaciones clínicas..... | 54 |
| 8. Comentario final..... | 58 |
| 9. Conclusiones..... | 60 |
| 10. Bibliografía..... | 62 |

1. RESUMEN.

La relación neurona-glia es uno de los factores que determina, la presencia de láminas y columnas en la corteza cerebral de la rata adulta. Esta relación, puede resultar afectada por diversos factores que alteran así el proceso de corticogénesis. En el presente trabajo se propuso evaluar el papel que juega la relación neurona-glia durante el desarrollo del tejido cortical fetal transplantado al sistema ventricular de huéspedes adultos mediante dos procedimientos diferentes.

El método de trasplante cerebral permite el aislamiento de regiones específicas del SNC en diferentes estadios ontogénicos para observar el efecto de los factores ambientales en el desarrollo. Así, al comparar las características del tejido transplantado con aquellas presentes en el tejido normal, es posible determinar la contribución de los diversos factores (ambientales y genéticos) que afectan el desarrollo del Sistema Nervioso.

Se utilizaron Ratas Macho de la cepa Wistar a las cuales se les transplantó mediante técnica estereotáxica tejido cortical fetal de la región parieto-occipital en el interior del sistema ventricular. Posteriormente, los cerebros fueron extraídos y procesados para tinción de Nissl e inmunocitoquímica con el fin de observar la citoarquitectura del tejido así como la posible relación entre neuronas y glía.

Los resultados obtenidos mostraron que los tejidos transplantados en bloque

tuvieron la tendencia de presentar patrones citoarquitectónicos laminados, mientras que los tejidos semidisociados no siguieron esa tendencia y se mantuvieron desorganizados.

Es probable que estas alteraciones se deban a modificaciones producidas durante el procedimiento de trasplante, aunado a cambios en la población glial. En la discusión se analizan las posibles causas de estas alteraciones.

2. ANTECEDENTES GENERALES

2.1 Embriología general e histogénesis del Sistema Nervioso

Central.

Durante la última fase de la gastrulación, las células del ectodermo se diferencian mediante un fenómeno de inducción generado por el mesodermo notocordal subyacente. La inducción consiste en la transmisión de una señal o señales (de diversa naturaleza), de un tejido inductor a uno receptor, el tejido inducido; este traduce dicha señal como un cambio estructural y bioquímico. Como resultado de este fenómeno, se determina el neuroepitelio y se limita la potencialidad celular del ectodermo somático (Jacobson, 1978; Kandel, 1985).

La diferenciación del neuroepitelio está determinada por dos fenómenos genómicos. El primero consiste en la represión de los genes que inducen la diferenciación del ectodermo hacia tejido no neural, durante este período, no se observan cambios histológicos o ultraestructurales en las futuras células neurales. El segundo, depende de la expresión de los genes que favorecen la especificación de tipos celulares tanto neurales como no neurales (Jacobson, 1978).

Una vez determinado el neuroepitelio, las células que lo conforman se alargan progresivamente, y originan la placa neural (Figura 1-A). Poco después, esta

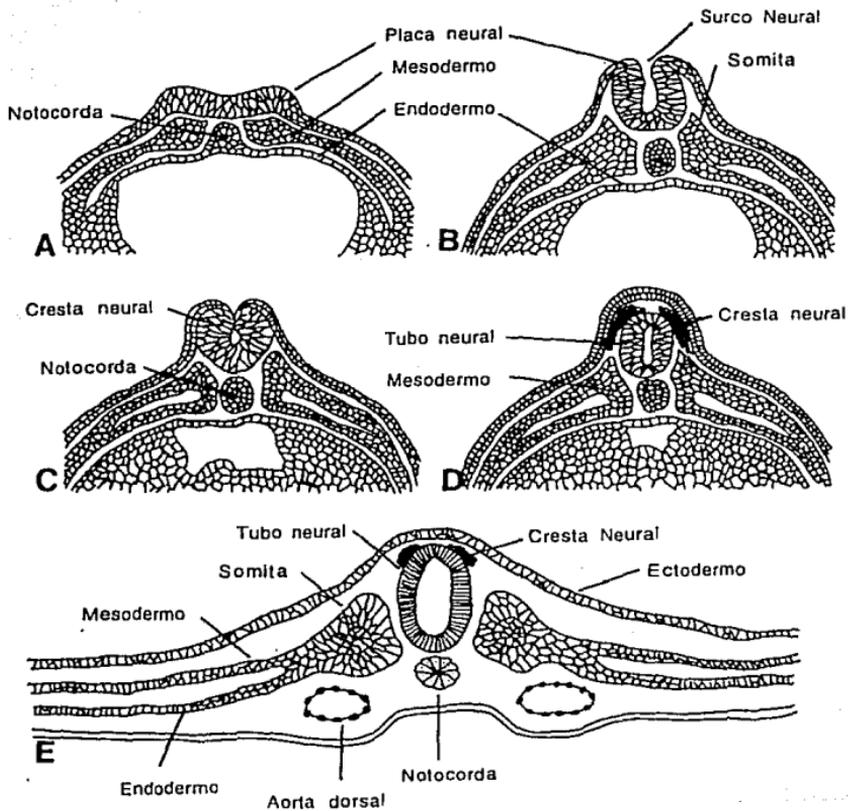


FIGURA 1.

Secciones transversales de la neurula de *Xenopus* durante las etapas sucesivas de la formación de la placa y el tubo neural (A-D). En el esquema inferior (E) se muestra la sección transversal de un embrión de pollo y la relación del tubo neural con otras estructuras que se originan durante la neurulación. (A-D tomado de Purves y Lichman, 1990; E tomado de Jacobson, 1978).

estructura sufre una depresión medial que se extiende en toda su longitud dando paso al surco neural (Figura 1-B). Durante este proceso, las células cilíndricas del neuroepitelio sufren una constricción apical, por lo que adquieren una forma que semeja a una botella (Baker y Schoeder, 1967), dicha modificación se acompaña del engrosamiento de los bordes del surco, lo que contribuye a que estos se toquen, y se unan rostro-caudalmente en la región dorsal para formar al tubo neural (Figura 1-D). A todo este proceso se le conoce en conjunto como neurulación.

Mientras el proceso de generación del tubo neural concluye, las células del borde del neuroectodermo se separan y migran a una posición dorso-lateral, lugar en donde constituyen las crestas neurales (Figura 1-E). Las células de estas estructuras darán origen a los Ganglios Espinales, al Sistema Nervioso Periférico, a la Médula Adrenal y al Sistema Neuroendócrino Difuso o Sistema APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxilation; Fujita y Kobayashi, 1978; Andrew, 1982).

Los extremos del tubo neural, conocidos como neuroporos anterior y posterior, se cierran más tarde, y así aíslan el lumen del tubo del resto del embrión. Esta cavidad dará origen después al sistema ventricular cerebral.

Terminada la formación del tubo neural, este sufre dos flexiones como resultado de efectos hidrodinámicos y de los ciclos mitóticos asincrónicos: la cefálica y la caudal, lo que define tres grandes vesículas primarias: el Procencéfalo (cerebro anterior), el Mesencéfalo (cerebro medio) y el Rombencéfalo (cerebro

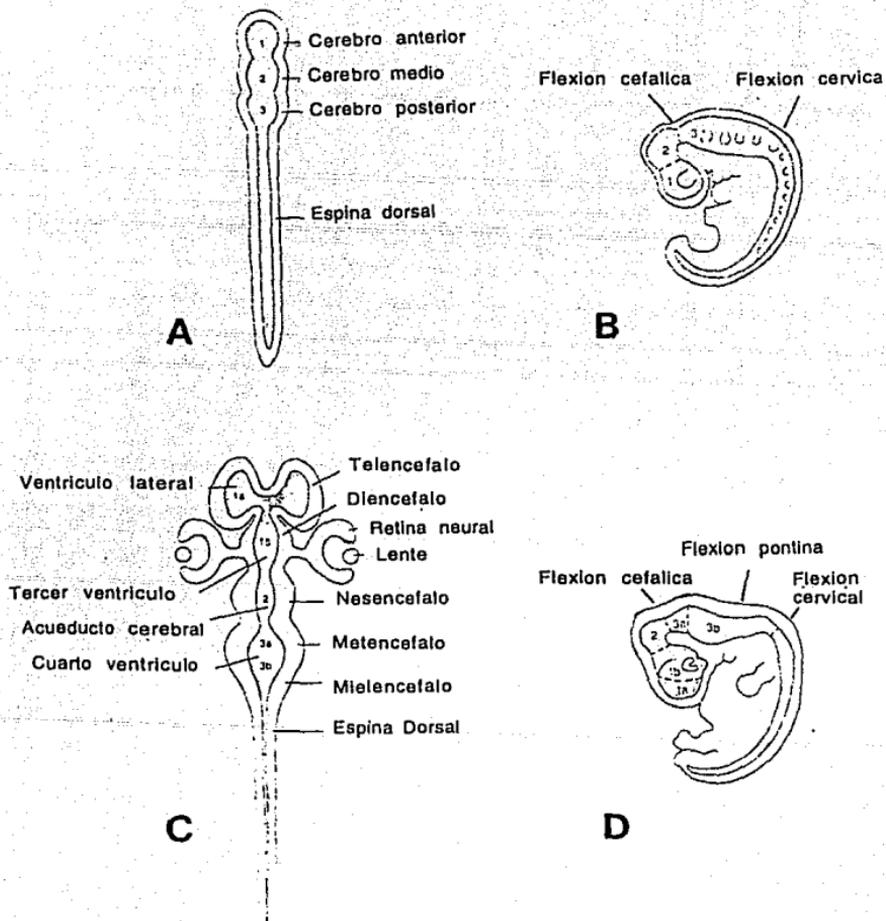


FIGURA 2.
 Representación digramática de los diferentes estadios de la embriogénesis del Sistema Nervioso Central en mamíferos. (Tomado de Kandel, 1985).

posterior; Kandel, 1985; Cowan, 1973; Cowan et al, 1984; Jacobson, 1978. Figura 2 A-B).

Con el aumento en la densidad celular de las vesículas primarias, se observan dos fenómenos, el primero está relacionado con la división del Procencéfalo, que origina al Telencéfalo y al Diencéfalo, y la división del Rombencéfalo, que dará lugar al Metencéfalo y al Mielencéfalo. El Mesencéfalo no sufre modificación alguna. El segundo fenómeno consiste en una tercera flexión entre el límite del Mielencéfalo y el Mesencéfalo: la flexión pontina (Kandel, 1985., Pansky et al, 1988; Figura 2 C-D). De esta forma queda establecido el patrón básico de la anatomía del SNC; el Telencéfalo (que es una estructura doble) origina a la Corteza Cerebral, los Ganglios Basales y los Bulbos Olfatorios; el Diencéfalo origina al Tálamo, al Hipotálamo, al Subtálamo, las Retinas y a los Nervios y Tractos Ópticos (Jacobson, 1978., Pansky et al, 1988). El Mesencéfalo se mantiene como tal, mientras que el Mielencéfalo origina a la Médula Espinal y al Bulbo Raquídeo. El Puente y el Cerebelo se forman del Metencéfalo (Pansky et al, 1988; Gilbert, 1991).

Histogénesis.

Han sido propuestas diversas hipótesis para explicar la génesis de los distintos tipos celulares corticales (His, 1888; Shaper, 1897; Ramón y Cajal, 1906; Sauer, 1935; Kershman, 1938; Sidman et al, 1959; Smart y Leblond, 1961; Fujita, 1963). Waechter y Jaensch (1972) y Levitt, et al (1981) proponen que las células

gliales y las neuronas provienen de diferentes líneas germinales. Sin embargo, Walsh y Cepko (1988) con base en las técnicas de marcaje con retrovirus, proponen la existencia de un solo progenitor para ambos tipos celulares. Independientemente de lo anterior, el primer tipo celular en diferenciarse durante el desarrollo del Telencéfalo de los mamíferos es la glia radial al mismo tiempo que algunos astrocitos no radiales (Rickmann y Wolff, 1981; Cameron y Rakic, 1991). Por su parte, a excepción de algunas células de la capa VI, todas la neuronas de la Corteza Cerebral en la rata se generan y migran antes del nacimiento durante los días embrionarios 16 y 20 (Kaplan, 1980) (Figura 3).

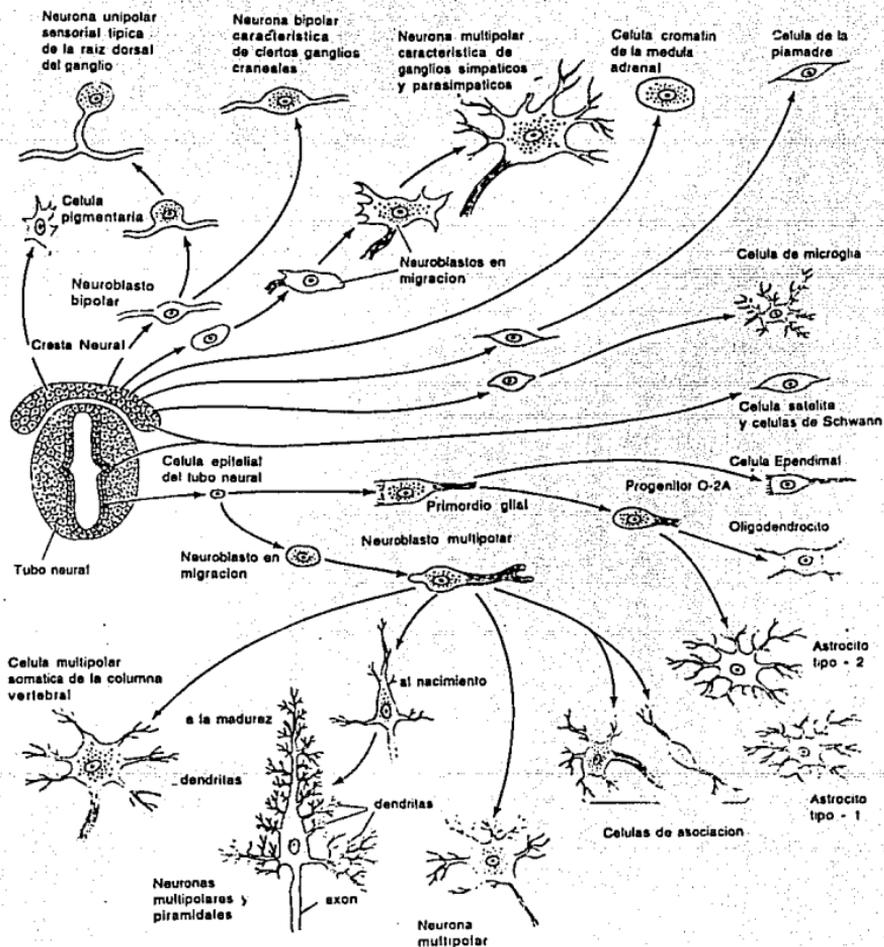


FIGURA 3.

Resumen de algunos de los tipos celulares y sus derivaciones diferenciados a partir del tubo y crestas neurales (Tomado de Gilbert, 1991).

2.2. Desarrollo de la Corteza Cerebral de la rata.

2.2.1 División y proliferación celular

Durante el desarrollo temprano del Telencéfalo, la pared del tubo neural que lo forma, está constituida de un epitelio homogéneo en el que se observaran más tarde, figuras mitóticas en la región adluminal.

Durante la mitosis o fase M (que ocurre en la superficie del tubo), la célula hija queda estable en la fase G₁, mientras que la célula madre extiende unas prolongaciones citoplasmáticas que se mantendrán unidas, por un lado, a la superficie externa del tubo neural, y por el otro, a la superficie interna del mismo, el núcleo entonces, migra por dentro de dicho proceso citoplasmico alejándose de la superficie ventricular. Durante esta migración, tienen lugar las fases G₁, S y G₂ del ciclo celular. Posteriormente, el núcleo regresa a su posición en la región ventricular donde se divide; al tiempo que la prolongaciones citoplasmáticas se retraen (Jacobson, 1978., Kolb, et al, 1990). Este movimiento nuclear es conocido como Migración Nuclear Intercinética (Sidman et al, 1959, Ver Jacobson, 1978)(Figura 4) y provoca la impresión de un tubo neural pseudoestratificado (Jacobson, 1978; Kandel, 1985; Stewart, 1989).

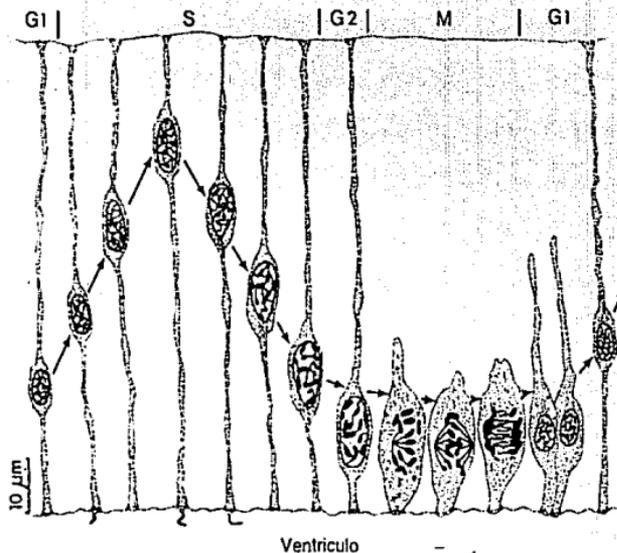


FIGURA 4.

El ciclo celular en el Tubo Neural. Durante el ciclo celular en el Tubo Neural tiene lugar la migración del núcleo a lo largo de las prolongaciones citoplásmicas de los neuroblastos, que lo alejan del epitelio germinal. Antes de la mitosis, durante la fase S tardía, el núcleo migra desde la superficie ventricular. Durante la fase G2 el núcleo regresa a su punto de origen y comienza a retraer sus prolongaciones citoplásmicas al tiempo que se condensa la cromatina nuclear. Más tarde, durante la fase M, el proceso citoplásmico se retrae completamente y ocurre la división celular. Durante la fase G1 el proceso celular se extiende nuevamente y comienza otro ciclo celular. Todo este proceso recibe el nombre de Migración Nuclear Intercinética (Tomado de Purves y Litchman, 1990).

La estructura de la organización cortical adulta en láminas y columnas depende, entonces de 2 factores: 1) el momento de neurogénesis, que determina en el plano vertical la posición de una célula en una columna y, 2) la interacción entre la célula que migra y los elementos que la dirigen y que originan en el plano horizontal la columna a la que pertenece la neurona.

2.2.2 Migración

Los estudios del desarrollo realizados en el Telencéfalo del mono indicaron que los neuroblastos migran desde su lugar de origen hasta la corteza cerebral al usar como guía los procesos citoplásmicos de la glía radial (Rakic, 1971 a,b; 1978, 1988; Schmechel y Rakic, 1979, a ,b; Levitt y Rakic, 1980). Los cuerpos de estas células originalmente descritas por Ramón y Cajal (1909) permanecen en la zona ventricular, mientras que sus procesos citoplásmicos se extienden verticalmente, en forma radial, hasta la superficie pial de la zona marginal (Figura 5 A-B) (Rakic, 1972; Schmechel y Rakic, 1979a). Este tipo de glía se caracteriza por: 1) temprana aparición (E9 en el ratón, Houle y Fedoroff, 1983), 2) reacción PAS positiva en el pie glial que se encuentra unido a la superficie cortical, 3) abundancia de microtúbulos y filamentos intermedios constituidos de Vimentina y, 4) fenotipo maduro definido antigénicamente como: GFAP+, GS+, A2B5-RAN2-, GD3- (ver Tabla 1)(Agranoff, 1986; Fedoroff, 1986; Culican, et al, 1990).

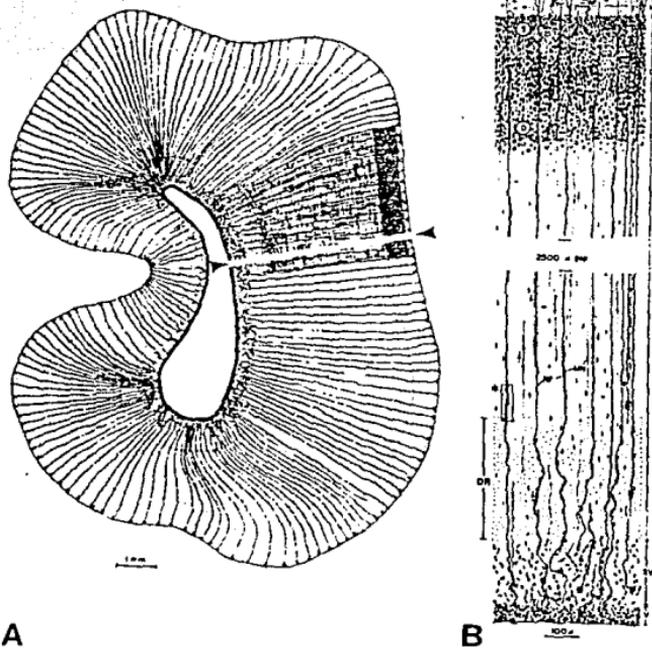


FIGURA 5.

A) Dibujo de cámara lúcida que muestra una sección coronal a nivel parieto-occipital del telencéfalo de un mono de 97 días de edad gestacional teñido con una impregnación metálica. Las fibras radiales son las líneas finas, ilustran su arreglo tal y como se ve a baja ampliación (escala igual a un milímetro). El área delimitada por la zona clara entre las flechas está dibujada en B a una mayor ampliación.

B) Dibujo de cámara lúcida de la pared cerebral del área indicada por las flechas en A. El rectángulo indicado con un asterisco marca la porción aproximada de la reconstrucción tridimensional de la figura 6A.

TABLA 1

MARCADORES MAS COMUNMENTE USADOS PARA IDENTIFICACION DE
DIVERSOS TIPOS CELULARES.

Neuronas

Neurofilamento
Toxina de tetanos
A2B5*
Enolasa (gamma)

Oligodendrocitos

Galactocerebrósido (GC)
Sulfatido (SULF)
Gangliósido GD3
Proteína básica de mielina (MBP)
Proteína Proteolípídica de Mielina (MAG)
Dehidrogenasa glicerofosfatada (CNP)
Anhidrasa Carbonica II (CA)
Hidrolasa del ester de Colesterol

Células Meningeales

Fibronectina
Ran-2
Epen-1

Fibroblastos

Fibronectina
Thy-1

Células neuroepiteliales

Vimentina (VIM)

Astrocitos

Proteína Fibrilar Acidíca de la Gífa (GFAP)
Glutamina Sintetasa (GS)
Proteína S-100
Ran-2

Células de Schwann

217c*

Ran-1

Sulfátido (SULF)

Proteína Fibrilar Acidíca de la Glia (GFAP)

Proteína básica de Mielina (MBP)

Laminina

Galactocerebrósido

Células ependimales

Cilia

Ran-2

Epen-1

Macrofágos (microglía)

MAC-1

MAC-3

Esterasa no específica

Esferas de latex

*Anticuerpos disponibles sólo en su forma monoclonal. La restante lista corresponde a anticuerpos policlonales (Bartlett et al, 1981; Bjorklund, H., Bignami, A. 1986).

Los estudios realizados con microscopia electrónica (Rakic, 1971b) muestran que los neuroblastos en migración mantienen aposiciones estrechas con las células de la glia radial durante todo el proceso. Las reconstrucciones de neuroblastos en migración realizadas a partir de secciones seriadas del Telencéfalo en desarrollo, revelaron que el neuroblasto poseía hacia el punto de desplazamiento, un proceso citoplásmico largo y grueso (proceso guía o líder) que se enrolla, durante la migración al proceso glial, al tiempo que emite filopodios a fibras radiales vecinas. Caudalmente, el neuroblasto presento un proceso largo y delgado (Proceso Trailer) que no se enrolla a la guía radial sino que la sigue paralelamente y que hasta el momento no se le conoce función alguna. Se observó a más de un neuroblasto migrando por el mismo proceso glial (Figura 6 A-B) (Rakic, 1974a, b).

Schmechel y Rakic (1979b) indican que las células radiales detienen temporalmente su división y maduración durante los 2 meses que coinciden con la proliferación y migración de los neuroblastos. Estas células (la glia radial) manifiestan así, un período de estabilidad en el que expresan un fenotipo particular, después, cuando la migración de los neuroblastos ha terminado, reinician sus ciclos mitóticos, pierden sus prolongaciones citoplásmicas y sufren una transformación progresiva hacia un tipo de astrocito clásico (astrocito fibroso) (Choi y Lapman, 1978; Schmechel y Rakic, 1979a; Levitt y Rakic, 1980; Choi, 1981; Choi et al, 1983; Bitner et al, 1987; Misson et al, 1988 a y b; Culican et al,

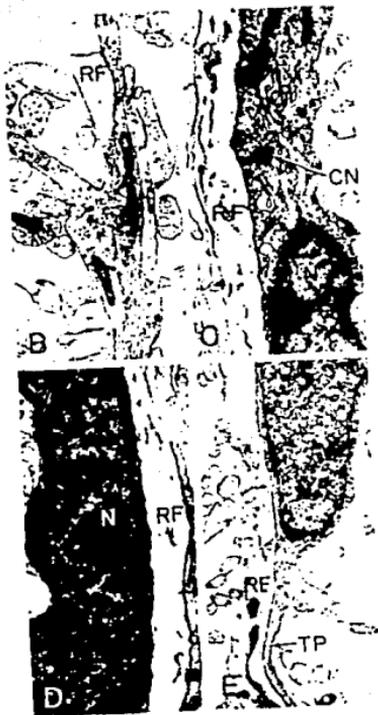
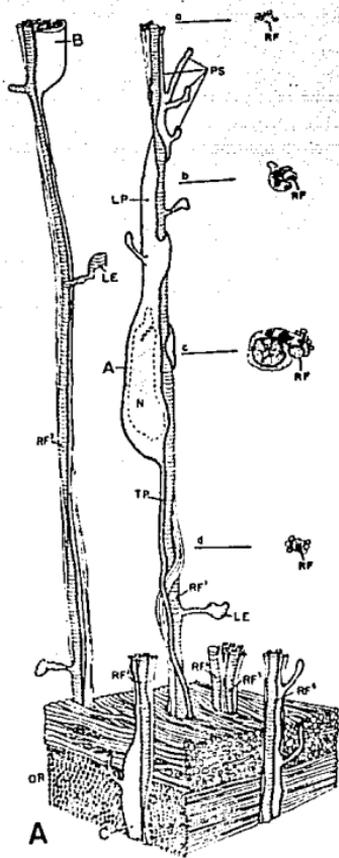


Figura 6

FIGURA 6.

A) Reconstrucción tridimensional semidiagramática de la relación entre las células que migran y la glía radial en la zona intermedia. La corteza cerebral se encuentra a más de 1000 μ de distancia hacia arriba de la posición aproximada de la célula mostrada en este dibujo. La porción inferior del diagrama muestra las fibras paralelas de la radiación óptica (OR) el espacio restante está ocupado por las fibras menos homogéneas de los demás sistemas de fibras aferentes. La frontera entre ambos sistemas de fibras es bastante clara. Todas las demás fibras han sido omitidas en la parte superior para poder mostrar a las fibras radiales (RF1-6) y su relación con las células en migración (figura 5 A, 5 B y 6 A) y otros procesos verticales. El soma de la célula en migración (A) con su núcleo (N) y su proceso líder (LP) está dentro del espacio reconstruido, no así la parte posterior o proceso Trailer (TP) que desciende por la fibra radial. El cuerpo celular de la célula B está cortado en la parte superior de la figura y el proceso líder de la célula C está mostrado en el momento de penetrar entre las fibras de la radiación óptica al cruzar la zona intermedia.

B) Imagen de Golgi de una célula en proceso de migración. B= Punta líder; C= Citoplasma del proceso líder; N= Núcleo; E= Pricipio del proceso posterior. A la derecha se observan micrografías obtenidas mediante microscopía electrónica de cortes realizados a los niveles que se indican con las flechas en la imagen de Golgi donde se puede observar la aposición entre la célula que migra y la guía radial. PC= Placa cortical; D= células en capas profundas; IZ= Zona Intermedia; MZ= Zona Marginal; OR= Radiación óptica; RF= Fibra radial; S= células corticales superiores; SV= Capa Subventricular; VZ= Zona Ventricular. (Tomado de Rakic, 1978).

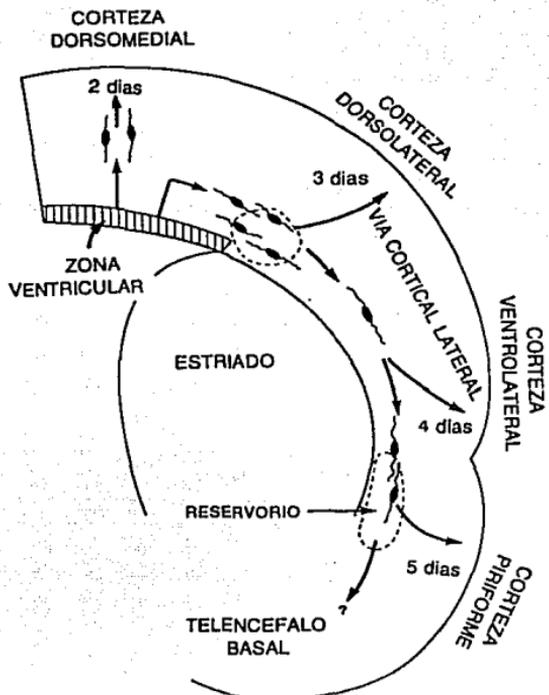


FIGURA 7.

Diagrama que resume las principales rutas de migración de los neuroblastos en la corteza cerebral. Las células generadas en la zona ventricular (marcada con líneas) migran radialmente hacia la placa cortical en dos días, lateral a la placa en tres y dorsolateral a esta en cuatro. Algunas células generadas en la zona ventricular migran lateralmente por mas de cuatro días y forman un reservorio, de él, algunas células migran a la corteza piriforme en un lapso de cinco días después de su generación. Otras células en el reservorio se pueden mover hacia el telencefalo después de cinco o mas días de migración (Tomado de Bayer y Altman, 1992).

1990; Takahashi et al, 1990). La organización en empalizada que se observa en la distribución de los astrocitos en la corteza adulta de ratas y monos es un relicto de la distribución radial de la glia durante el desarrollo de dicha estructura (Cochard, 1984; Bitner et al, 1987) (Figura 7).

Han sido observadas varias aposiciones entre neuroblastos, neuronas y glia radial en el cerebelo del mono (Rakic, 1971a), Hipocampo de mono (Pinto-Lord et al, 1982), corteza cerebral de rata (Peters, 1973), y en la neocorteza del ratón en desarrollo (Pinto-Lord et al, 1982). En resumen, la migración a lo largo de una guía glial implica al menos tres pasos que dependen de la edad celular (Mc Connell, 1988): 1) El reconocimiento de un camino de migración, 2) La existencia de un mecanismo para el acomodo del cuerpo celular a lo largo de la vía de migración y, 3) La presencia de una señal específica para que el neuroblasto cese su migración y se separe del proceso glial. Por otro lado, Shoukimas y Hinds (1978), al reconstruir los cortes seriados del Telencéfalo temprano del ratón, no encontraron relaciones estrechas entre neuroblastos y células gliales, a pesar de que los procesos de estas últimas eran abundantes. Los cortes reconstruidos por ellos, mostraban neuroblastos bipolares con sus procesos líderes que se extendían por trechos muy pequeños, y carentes de relación con las células de la glia radial. Concluyen que en edades tempranas las vesículas cerebrales son lo suficientemente delgadas como para que los neuroblastos no necesiten de las células radiales para migrar hacia la superficie del tubo neural.

Es posible entonces, encontrar dos mecanismos de migración: uno que utiliza a las fibras de la glia radial como guía y que aparece en etapas relativamente tardías en el desarrollo, y otro que se establece de manera inicial en etapas tempranas, cuando la corteza cerebral no mide más de 100 μm de ancho. Probablemente este último mecanismo incluya Proteínas de Matriz Extracelular (Reynolds y Møllgard, 1985; Stewart y Pearlman, 1987; Chun y Shatz, 1988). Lo anterior apoya lo mencionado por Rakic (1971b) al respecto: "El mecanismo de migración puede presentar diferencias en los neuroblastos generados tardíamente y en neuroblastos generados tempranamente, además, puede ocurrir que el proceso sea diferente en especies con cerebros pequeños".

2.2.3 Desarrollo laminar

Como resultado de la proliferación celular, aproximadamente en el día embrionario 13 (E13) el Telencéfalo de la rata pierde su homogeneidad y comienza la laminación de la corteza cerebral.

En esta etapa, el Primordio Plexiforme o Preplaca (PP) comienza a formarse en la parte más lateral de la pared del tubo neural, correspondiente al telencéfalo, entre el límite de la futura corteza cerebral y el cuerpo estriado en desarrollo. Esta es una región transitoria (Boulder Committee, 1970; Edmunds, 1982; Luskin, 1985a, b), constituida principalmente de fibras tangenciales de origen talámico

(Marín-Padilla, 1971, 1972; Rickman y Wolff, 1981; Smart, 1983; Steward y Pearlman, 1987), localizada sobre el surco lateral de la Zona Ventrícular (ZV) del tubo neural. A esta región, alejada del borde ventrículo, migran radialmente las células que se originan en la ZV y que formaran más tarde a las células de Ramón y Cajal-Retzius y a las células Polimórficas de la capa VI (Marín-Padilla, 1970; 1971; Kolb et al, 1990).

Aproximadamente entre los días gestacionales E15 y E17 de la rata (ver tabla 2), el PP se divide en dos, así forma la Zona Marginal (MZ) y la Placa Cortical (CP) (Caviness y Rakic, 1978). A partir de esta última placa se generarán más tarde las láminas VIa, V, IV, III y II de la corteza cerebral del adulto (Kolb, 1990). Paralelo a la formación de la CP, externamente a la ZV y justo debajo de la PP, se forman, la Zona Intermedia (ZI) (Kostovic y Molliver, 1974; Kostovic y Rakic, 1980), la Subventrículo (SV) (Comite Boulder, 1970; Marín-Padilla, 1971; Rakic, 1982) y la Subplaca (SP) (Marín-Padilla, 1971) (Figura 8).

Los experimentos autoradiográficos con Timidina tritiada han demostrado que las neuronas que nacen primero durante el desarrollo de las láminas corticales, están destinadas a permanecer en las capas más profundas de la neocorteza, mientras que las que nacen posteriormente formaran las capas superficiales, este mecanismo, conocido como Desarrollo Interno-Externo (Angevine y Sidman, 1961) ha sido observado en el ratón (Angevine, 1961, 1962), la rata (Berry y Rogers, 1965; Shimada, 1970), el gato (Luskin, 1985a, b) y el mono (Rakic, 1974a). Así,

TABLA 2
DESARROLLO ONTOGENICO DEL SISTEMA NERVIOSO DE LA RATA.

| | |
|----------------|---|
| E10-E11 | La placa neural comienza a fusionarse y origina el tubo neural. |
| E12 | El tubo neural está ya completamente formado y comienzan a ser visibles las tres vesículas cerebrales. Comienza la división de las células que formarán el Primordio Plexiforme (estas células son las precursoras de las células de Ramón y Cajal-Retzlus y de las células polimórficas). |
| E12-E13 | Están ya formadas las cinco vesículas cerebrales. |
| E13 | La pared neural del telencéfalo pierde su homogeneidad y comienza la laminación cortical. Empieza la formación del Primordio Plexiforme en la pared cortical. Se inicia la fusión de los bordes telencefálicos y con ello, las fibras que formarán al cuerpo calloso atraviezan de un lado a otro. |
| E17-E18 | La placa cortical, ya visible en la parte medial del telencefalo termina de formarse. Las fibras noradrenérgicas y serotoninérgicas llegan a la placa cortical y a la zona ventricular. Las fibras Gabaérgicas septales invaden la región medial de la corteza en desarrollo. |
| E19 | Termina la fusión del telencefalo. La migración celular en la corteza cerebral casi ha concluido. La estructura laminar de la corteza ya está definida. |
| E21 | Termina el periodo embrionario. El organismo nace y continúa su desarrollo postnatal. Se originan los oligodendrocitos en las fibras del cuerpo calloso (Stunrock, 1976). |

NOTA: Se considera al día de apareamiento como E0 y al día siguiente como E1. Debido a que carecen de importancia para este trabajo los primeros días del desarrollo no se mencionan sino hasta el día 10

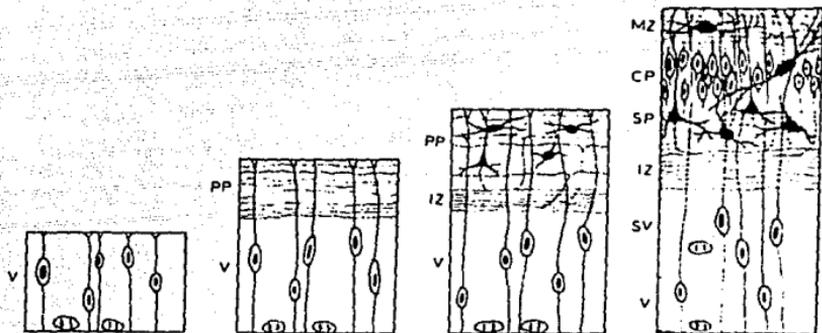


FIGURA 8.

Esquema de cuatro diferentes estadios progresivos de la laminación fetal en la pared cortical.

Las células de Ramon y Cajal-Retzlius en la ZM y en la SP son generadas al mismo tiempo. Las pocas neuronas que están mas diferenciadas y que atraviesan la PC probablemente pertenezcan a la misma población celular. V= Zona ventricular; PP= Primordio plexiforme; ZI= Zona Intermedia; ZM= Zona marginal; PC= Placa cortical; SP= Subplaca; SV= Zona subventricular. (Tomado de Jacobson, 1978 y Cowan, 1978).

la primer capa en diferenciarse y en madurar es la capa VI seguida por la maduración progresiva de las capas V, IV, III y II. El tiempo de origen de la capa más superficial (I) y de la más profunda (VIb) todavía no ha sido determinado (Marín-Padilla, 1971, 1978). Este patrón de desarrollo, sugerido por primera vez por Vignal en 1888, es más estricto en mamíferos superiores como el gato y el mono que en los roedores (figura 9).

2.2.4 Desarrollo columnar

Para explicar la relación neurona-glia durante la migración, Rakic (1978, 1981, 1989) y Schmechel y Rakic (1979) sugieren la Teoría de la Unidad Radial (Ver Smart y McSherry, 1982) que postula que en la Zona Ventrícular existen unidades proliferativas (pequeños grupos de células neuroepiteliales) que producen una sola línea celular que migra a través de una sola guía radial (células de la glía radial) y forman una columna. Estas unidades proliferativas determinan el destino de una línea celular en la corteza y especifican la parcelación cortical en diferentes áreas citoarquitectónicas (Figura 10).

En este modelo estructural, la unidad morfofuncional esta representada por una minicolumna, definida con base en una línea celular orientada verticalmente , esta formada por la migración de los neuroblastos desde el epitelio germinal del tubo neural (vía la glía radial), hasta su destino en la neocorteza (Rakic, 1971a,

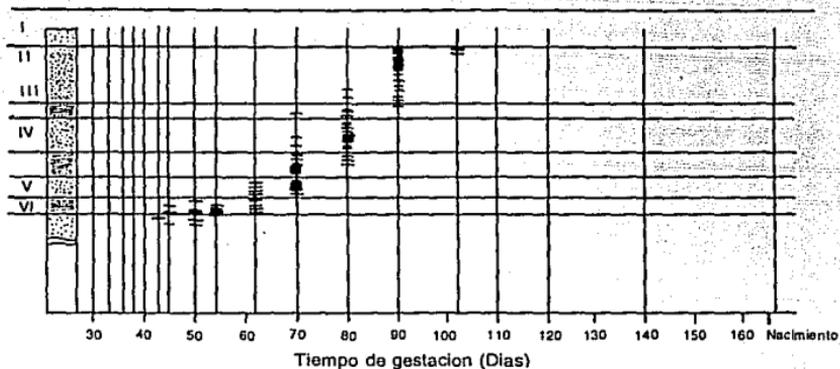


FIGURA 9.

Gradiente afuera-adentro de la histogénesis cortical. Las fechas de nacimiento de las diferentes neuronas en la corteza cerebral del mono fueron determinadas usando autoradiografía con timidina tritiada. El marcador fue inyectado en las fechas que están indicadas por las líneas verticales A-R, los animales fueron cuidados hasta que alcanzaron la madurez. Las células que sufrieron la mitosis final al tiempo de la inyección estuvieron fuertemente marcadas. La figura ilustra las posiciones de las neuronas fuertemente marcadas en la corteza visual primaria (Area 17). El dibujo de la izquierda indica las capas corticales. Los días embrionarios están indicados en la ordenada, comenzando en la izquierda con el fin del primer día fetal (E28) y terminando con el nacimiento (E165). Las posiciones relativas de las células marcadas dentro de la corteza están indicadas por la rayas horizontales sobre las líneas verticales (tomado de Rakic, 1978).

1988). Esta minicolumna mantiene sus dimensiones y número de células constantes en todas las especies de mamíferos (Mountcastle, 1979). La organización columnar puede ser concebida como un mosaico de columnas interrelacionadas o como módulos neuronales organizados radialmente (Rakic, 1972, 1982).

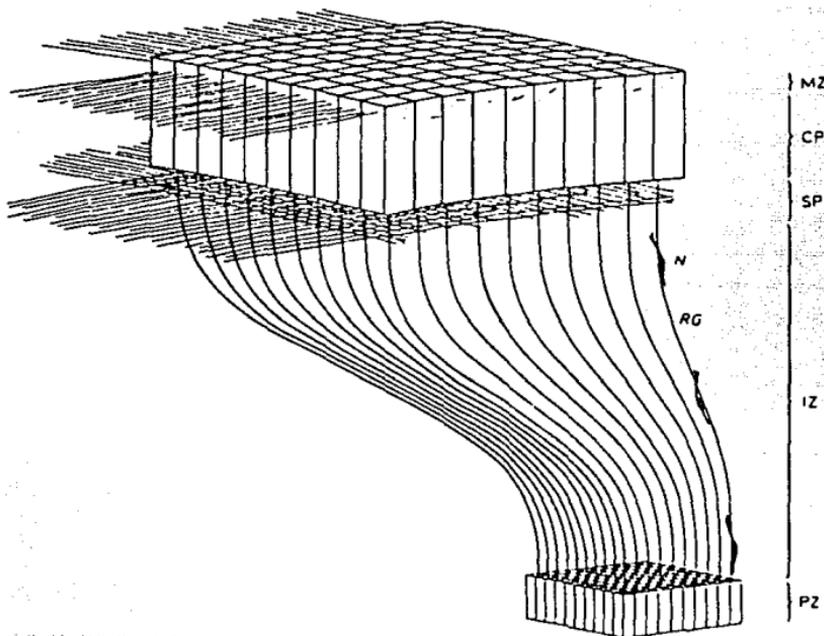


FIGURA 10.

Esquema que ilustra la hipótesis de la Unidad Radial. Los neuroblastos (N) son generados por una unidad proliferativa en la zona proliferativa (PZ) y migran a lo largo de la misma glía radial (RG) en la zona cortical particular. Cada neuroblasto migra a través de la placa cortical (PC) hasta la subplaca (PS). La PS contiene fibras que establecen sinapsis temporales con los neuroblastos que llegan a ella. Las zonas corticales que hacen sinapsis mas tempranamente son la PS y la MZ. En la zona marginal hacen sinapsis (MZ) las fibras de muchos sistemas subcorticales (Tomado de Rakic, 1978).

2.3 HISTOLOGIA DE LA CORTEZA CEREBRAL ADULTA.

2.3.1 Patrón Láminar

La corteza cerebral de los mamíferos muestra un considerable grado de diferenciación anatómica en áreas especializadas funcionalmente (Brodman, 1909; Lorente de Nó, 1938; Zilles, 1990). Las diferentes regiones corticales han sido clasificadas de acuerdo a su función predominante como motoras, sensoriales y de asociación. Todas acompañadas de diferencias anatómicas en su organización láminar (Figura 11).

Las áreas motoras y de asociación están caracterizadas por la ausencia de la Lámina Granular Interna (lamina IV), mientras que las áreas sensoriales poseen más desarrollada dicha lámina, por ser esta, el blanco de las fibras talámicas de los núcleos específicos de relevo. No obstante dichas diferencias, es posible hacer una descripción general de la estructura y composición celular de la corteza cerebral (Sur et al, 1990; Kolb et al, 1990; Zilles, 1990).

La corteza cerebral de la rata, al igual que en todos los mamíferos es una estructura organizada en 6 capas o láminas (Lorente de Nó, 1938; Jones, 1984 que a continuación se describirán de manera general.

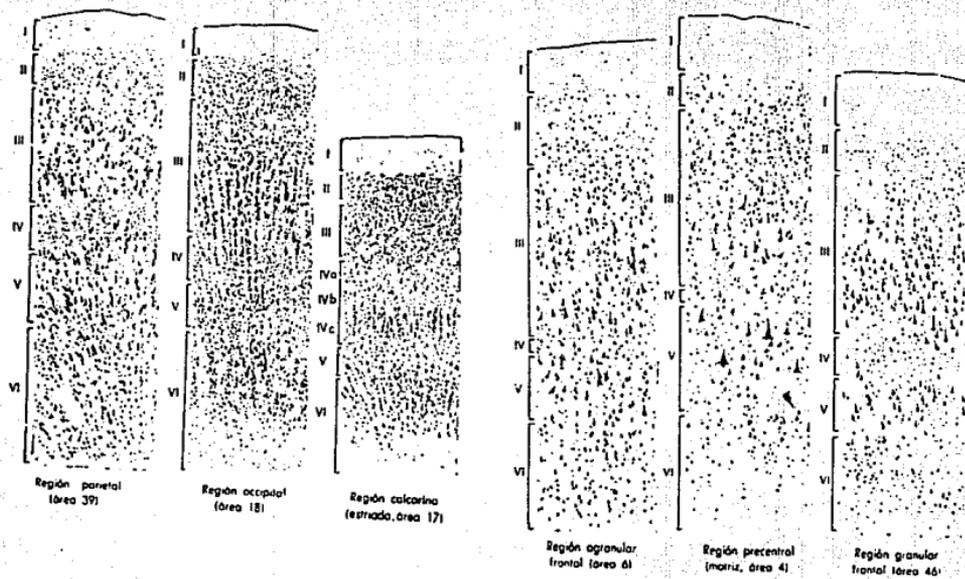


FIGURA 11.

Cuadro citoarquitectónico de varias áreas corticales típicas (Tomado de Lorente de Nó, 1938).

Lámina I : Molecular o Plexiforme (Marín-Padilla, 1971; Lorente de Nó, 1938). Es la más superficial, está compuesta principalmente de células gliales y por las fibras horizontales de las células Piramidales, de las Estrelladas y de las de Martinotti. En esta capa se ramifican las dendritas apicales de las células Piramidales Profundas. Contiene pocas neuronas dispersas, las células horizontales de Ramón y Cajal.

Lámina II : Granular Externa (Ramón y Cajal, 1909, 1911; Lorente de Nó, 1938; Zilles, 1990). Está compuesta por células estrelladas densamente empaquetadas y por células piramidales pequeñas, las dendritas basales de estas células se dividen aquí mismo mientras que las dendritas apicales lo hacen en la capa molecular (I). Esta área es atravesada por los axones ascendentes de las Células Piramidales Grandes de las capas IV y V.

Lámina III : Pirámidal Externa (Ramón y Cajal, 1909, Lorente de Nó, 1938). Principalmente se localizan aquí las células piramidales de tamaño medio. En ocasiones se le ha dividido en 2 substratos: el superior con células piramidales medianas y el inferior con células piramidales grandes. En toda la capa, se encuentran dispersas algunas células estrelladas (células multipolares de axón corto), células en canasta y células de Martinoti (pequeñas células triangulares o poligonales con axones ascendentes que participan en las conexiones intracorticales). Según Ramón y Cajal y Campbell, aquí se encuentra la banda de Baillarger, Brodmann la situa en la siguiente región. En la rata, la división entre

las láminas II y III no es muy clara, por lo que se les conoce como lámina II-III (Kolb, 1990; Zilles, 1990).

Lámina IV : Granular Interna (Ramón y Cajal, 1909, 1911; Lorente de Nó, 1938). Esta capa se caracteriza por poseer células estrelladas y piramidales pequeñas. Algunos autores (Ramón y Cajal, 1909, 1911; Lorente de Nó, 1938) la dividen en 2 subregiones: la parte superior (IVa) está formada por abundantes células cuyas dendritas apicales alcanzan la capa molecular mientras que las dendritas basales se extienden horizontalmente. La parte inferior (IVb) también contiene células estrelladas y piramidales pequeñas. Esta lámina está caracterizada por poseer un plexo axonal denso, formado por la arborización de las aferentes talámicas específicas, que la inervan antes de hacer contacto con las células piramidales grandes de las capas III y IV.

Brodmann situó aquí a la banda externa de Baillarger, una banda horizontal de fibras que hacen sinapsis con las dendritas basales de las pirámides profundas de la capa III.

Lámina V : Piramidal Interna o Ganglionar. (Ramón y Cajal, 1909; 1911; Lorente de Nó, 1938). Es una capa densa compuesta por neuronas piramidales grandes que dan origen, por un lado, a las vías descendentes largas que dejan la corteza y van por el cuerpo estriado, el tallo cerebral y la médula espinal, por el otro, originan a un axón ascendente que se ramifica varias veces y alcanza la capa I. Sus colaterales se extienden casi exclusivamente dentro de la capa V.

Esta lámina en la corteza motora contiene a las células de Betz.

Lámina VI : De Células Alargadas o Multiforme (Ramón y Cajal, 1909-1911; Lorente de No, 1938; Peters, 1984). Está compuesta por neuronas alargadas o bipolares que proyectan de regreso al talámo. Otros tipos de neuronas también se localizan aquí. Algunas de las prolongaciones apicales de estas células se ramifican numerosas veces aquí mismo y posteriormente ascienden sin colaterales hasta la capa I, mientras que otras terminan en la capa V. Generalmente se le subdivide en dos regiones: VIa y VIb de acuerdo a la presencia de células alargadas o no. (Figura 12).

2.3.2 Patrón Columnar.

Además de la organización laminar de la corteza cerebral en los mamíferos, se encuentra una organización vertical o columnar propuesta originalmente por Von Economo con base en la citoarquitectura. Más tarde, en 1938 Rafael Lorente de Nó y en 1957 Vernon Mountcastle, proponen que esta organización columnar representa un modelo funcional de operación cortical consistente en cadenas neuronales interconectadas que atraviesan todas las capas de la corteza cerebral (White, 1989).

La confirmación funcional de que la organización columnar de la corteza cerebral es diferente a la organización laminar fue provista por la observación de

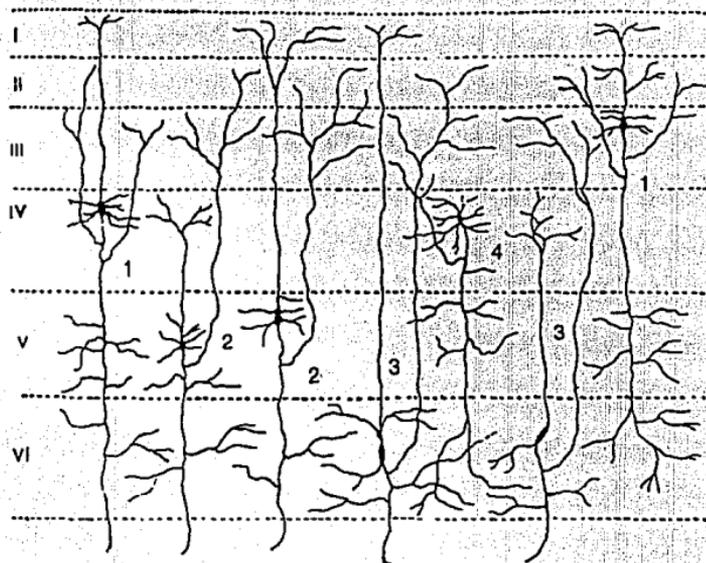


FIGURA 12.

Dibujo semiesquemático de las ramificaciones dendríticas y axiales de varios tipos de neuronas corticales con axones descendentes.

1. Células piramidales de las capas superficiales, 2. Células piramidales de las capas ganglionares, 3. Células fusiformes, 4. Células estrelladas (tomado de Lorente de No, 1938).

columnas funcionales en diferentes regiones sensoriales y motoras (Mountcastle, 1957; Abeles y Goldstein, 1970; Hubel y Wiesel, 1977). Así como mediante diferentes técnicas anatómicas como la degeneración anterógrada (Hubel y Wiesel, 1972), la peroxidasa de rábano (Rockland y Lund, 1983), la citocromo oxidasa (Land y Simons, 1985) y la autorradiografía (Hubel et al, 1978; Kennedy et al, 1976).

Los resultados obtenidos del estudio de la organización columnar, mediante diversas técnicas, pueden resumirse en los siguientes puntos:

1. Los arreglos columnares en la distribución de las fibras aferentes son una característica de la organización funcional de la corteza adulta.
2. En muchos casos, es posible encontrar correlaciones estructurales y funcionales entre columnas.
3. Las características funcionales de las diferentes regiones de la corteza cerebral dependen de la actividad de series de columnas, más que de una sola columna.

2.4 Transplantes al cerebro: un modelo para el estudio del desarrollo *in situ* del Sistema Nervioso Central.

El Sistema Nervioso constituye un conjunto de estructuras en las cuales la interacción entre la información genética y el ambiente determinan un alto grado de complejidad fisiológica y morfológica durante el desarrollo. En un intento por comprender estas interacciones, Olson (1983), propone que para una célula nerviosa determinada existen seis niveles de determinación morfológica y funcional progresivamente más complejos (Tabla 3). Sugiere que a partir de la dilucidación de las relaciones entre los distintos niveles, sería posible inferir el destino funcional de una célula ubicada en una determinada estructura al término de su desarrollo. Esto manipulado experimentalmente permite diferenciar entre los determinantes intrínsecos y extrínsecos del desarrollo, además de que posibilita, al simplificar el problema, obtener importante información acerca de los mecanismos reguladores del crecimiento y desarrollo citoarquitectónico.

Si bien, el trasplante neural ha sido un enfoque clásico a los problemas neuroembriológicos en vertebrados inferiores (urodelos, anfibios y peces) desde la década de 1920 (Jacobson, 1978), este método ha sido prácticamente ignorado para el caso de los mamíferos.

TABLA 3

**NIVELES DE ORGANIZACION IDENTIFICABLES EN LA PERIFERIA DE UNA DETERMINADA
CELULA DENTRO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL ***

| NIVEL | CARACTERISTICA |
|-------|---|
| I | Constituido por el líquido extracelular de los espacios intersticiales. |
| II | Formado por las células que rodean a una determinada neurona o célula glial. |
| III | Determinado por la localización en el espacio del cuerpo celular y por la dirección en la cual están orientadas sus proyecciones. |
| IV | Lo constituyen las áreas con las que el Sistema Nervioso interactúa, esto es, por las conexiones aferentes y eferentes. |
| V | Representa la relación del Sistema Nervioso con los demás órganos. |
| VI | Representa la relación entre el organismo y su mundo exterior. |

* Según Olson, 1989

En 1940, Le Gross Clark, describe el excelente índice de sobrevivencia y la posterior diferenciación de células embrionarias de la neocorteza transplantadas a la corteza de un conejo de seis semanas de edad. Este estudio pasó desapercibido y los intentos por realizar trasplantes de este tipo fueron esporádicos y sin éxito (Bjorklund y Stenevi, 1985; Das, 1990).

No fue sino hasta la década de los setentas que la posibilidad de transplantar tejido nervioso al SNC de los mamíferos fue reevaluada. Das y Altman en 1971 reportaron que era posible transplantar precursores de neuronas al SNC de ratas en desarrollo. El tejido transplantado sobrevivió y se integró al tejido receptor al cabo de 2 semanas. En 1976, Lund y Hauschka observaron que algunas regiones relativamente maduras del SNC podían también recibir trasplantes de tejido nervioso en diferenciación. Stenevi y Bjorklund (1976) estudiaron en forma sistemática la reproductibilidad y las condiciones de sobrevivencia de los trasplantes neurales.

Los numerosos estudios realizados hasta la fecha (Hoffer et al, 1974, 1975; Seiger y Olson, 1977; Zimmer, 1978; Mollgard et al, 1978; Gash et al, 1980; Graziadei y Kaplan, 1980; Dunnett et al, 1987; Rosenstein, 1987; Ebner et al, 1984; Escobar et al, 1989), establecen que los trasplantes de tejido fetal y neonato sufren una diferenciación citológica, histológica y funcional relativamente normal.

2.4.1 Aspectos Morfológicos.

Das y Altman (1971) y Das (1976) han mostrado que los precursores postmitóticos transplantados al cerebro de neonatos sufren una diferenciación citológica normal. La citoarquitectura del tejido transplantado se asemeja en la mayoría de los casos al patrón característico del área madura particular (Das y Altman, 1971; Lund y Hauska, 1976; Das y Hallas, 1978; Kromer et al, 1979). Kromer, Bjorklund y Stenevi reportaron las características de crecimiento y organización celular de tres regiones del SNC (Cerebelo, Tallo e Hipocampo), transplantados a una cavidad en la corteza cerebral del sujeto receptor. En dicho estudio confirmaron el efecto de la edad del donador en el índice del crecimiento del trasplante. Desde la perspectiva de este estudio, mas importante que lo anterior, resultan sus halazgos sobre las características de citoarquitectura de los trasplantes, ellos concluyen que: a) Las células neuroepiteliales de las diversas regiones estudiadas continúan proliferando después de transplantarse producen neuronas con características morfológicas normales; b) Las células que se diferencian antes de realizar el trasplante pueden sobrevivir y mantener el arreglo citoarquitectónico original en su nuevo ambiente; c) Las características de organización intrínseca y organización tridimensional de las regiones estudiadas pueden desarrollarse aún en un sitio ectópico del SNC adulto (Kromer et al, 1983).

Las células dentro del trasplante muestran abundantes interconexiones. Además, pueden observarse haces de fibras entre el trasplante y el cerebro receptor. Mediante técnicas electrofisiológicas y mediante estudios con peroxidasa de rábano, se ha demostrado que se trata de aferentes y eferentes (Lund y Hauska, 1976; Kromer et al, 1979). Estas conexiones no se establecen al azar. Por el contrario, los datos existentes señalan que los axones del receptor invaden al trasplante en mayor proporción cuando éste corresponde al área con la que normalmente se conectan (Lund y Hauschka, 1976; Das y Hallas, 1978; Bjorklund y Stenevi, 1979; Alvarado-Mallart et al, 1982). Por otra parte, los axones que invaden una zona del cerebro receptor previamente denervada siguen un patrón semejante al que caracteriza la inervación de dicha zona, siempre y cuando el área transplantada sea homóloga a la que fue destruida en el receptor (Bjorklund y Stenevi, 1977; Bjorklund et al, 1976, 1979 y 1979b). Esto sugiere la existencia de estímulos específicos que dirigen el crecimiento de las fibras hasta formar un patrón semejante al normal (Lund y Hauschka, 1976; Bjorklund y Stenevi, 1979).

2.4.2 Aspectos Funcionales.

Gash y cols (1980) son los primeros en reportar que los trasplantes de ejido hipotalámico inducen recuperación funcional en animales con deficiencia

congénita en Vasopresina. Posteriormente, Gibson et al (1982) con el modelo de hipogonadismo congénito en ratones corroboran la capacidad de los trasplantes para inducir recuperación funcional. Hasta la fecha, existen numerosos trabajos en donde se ha estudiado el efecto de los trasplantes en la recuperación de funciones alteradas por lesiones o deficiencias congénitas del SNC. Entre los sistemas estudiados se encuentran: el hipocampo, el cuerpo estriado, la corteza frontal, el cerebelo y el hipotálamo. El intervalo de parámetros valorados incluyen un amplio espectro que va desde aspectos neuroendocrinológicos hasta procesos cognoscitivos (Luine et al, 1983; Labbe et al, 1981; Wallace y Das, 1982).

No obstante lo satisfactorio de algunos de los resultados obtenidos, existen dudas acerca de los mecanismos por los cuales los trasplantes inducen recuperación funcional.

Los mecanismos propuestos hasta el momento por los cuales se sugiere que los trasplantes al cerebro inducen recuperación funcional se pueden clasificar como sigue:

1) Factores inespecíficos relacionados con el trasplante: Se ha sugerido que diversos factores inespecíficos asociados con la presencia de tejido extraño en el cerebro del receptor pueden explicar algunos de los cambios conductuales que se han observado, entre dichos cambios se incluye la lesión asociada con el procedimiento de trasplante. Sin embargo, en los casos en los que se han observado este tipo de fenómeno, el animal muestra deterioro en la conducta

después de la cirugía (Houser et al, 1987; Dunnet et al, 1987). Otro fenómeno inespecífico es la ausencia de la barrera hematoencefálica en el tejido transplantado. Rosenstein (1987) ha reportado que los trasplantes de neocorteza fetal carecen de barrera hematoencefálica o bien que esta no está bien diferenciada, de tal forma que las macromoléculas que normalmente no cruzan dicha barrera se detectan en el parénquima del trasplante y posteriormente en áreas adyacentes del cerebro del huésped e incluso líquido cefalorraquídeo.

2) Fenómenos de secreción relacionados con el trasplante: Gibson y colaboradores (1982, 1984) proponen a este mecanismo como el responsable de la recuperación de los ratones con deficiencia congénita del Factor Liberador de la Gonadotropina. Se propone que el trasplante es capaz de secretar factores ausentes en el tejido del receptor, para que esto sea posible, es necesario que las fibras del trasplante entren en contacto con el sistema vascular del receptor. Un mecanismo similar se ha propuesto para el caso de los trasplantes de médula Suprarrenal (Freed et al, 1981; Herrera-Marchitz et al, 1984). Bjorklund y cols (1987) proponen que el trasplante podría secretar factores neurotróficos por medio de los cuales se induce la recuperación funcional.

3) Fenómenos asociados a la interacción morfológica entre el trasplante y el cerebro del huésped: La interacción del tejido transplantado con los circuitos neuronales del cerebro receptor se ha propuesto como otro de los mecanismos que participan en la recuperación funcional de los trastornos inducidos por

lesiones neurológicas experimentales. Dicha integración varía en cuanto a la complejidad de las conexiones que se establecen entre el transplante y el huésped. En términos generales podemos establecer dos niveles de interacción; conexiones unilaterales y conexiones bilaterales. A la fecha se ha reunido una gran cantidad de evidencia que indica que las conexiones se establecen en ambas direcciones (Lund y Hauschka, 1976; Kromer y cols, 1979). Se ha sugerido también que en las conexiones no sólo existe especificidad topográfica (Das y Hallas, 1978; Alvarez-Mallart y Sotelo, 1982), sino que también existe especificidad neuroquímica, lo que sugiere la existencia de estímulos específicos en el cerebro del receptor que generan el crecimiento axonal por parte del transplante (Gibbs et al, 1985; Harvey y Lund, 1981).

Pese a toda la evidencia experimental acumulada, existen aun varios aspectos no resueltos de la relación transplante - huésped que impiden asegurar que el mecanismo de recuperación funcional en los casos anteriores dependa, por lo menos exclusivamente, de contactos sinápticos entre ambos tejidos. De hecho, es posible que el mecanismo de recuperación involucra los fenómenos de secreción. Es evidente que los mecanismos propuestos no son excluyentes y podrían ser complementarios.

Por otra parte, los datos existentes hasta el momento sugieren que los mecanismos de actividad celular (eléctrica o metabólica) (Schmidt et al, 1982; Wurthele et al, 1981) y de comunicación celular (Neurotransmisión o

Neurosecreción)(Hoffer et al, 1985; Gibson et al, 1984; Krueger et al, 1985) son similares a los desarrollados por el tejido nervioso *in situ*. Esto sugiere que los efectos conductuales inducidos por los trasplantes dependen de la naturaleza de la información que se transmite en el sistema y no de los mecanismos de trasmisión que participan.

3. ANTECEDENTES ESPECIFICOS.

A la fecha numerosos estudios han demostrado la capacidad del tejido cerebral para sobrevivir cuando se le ha transplantado en receptores adultos (Das, 1974, Das et al, 1980, 1985). Para el caso de la neocorteza, se ha documentado que los trasplantes de 16 días de edad gestacional continúan el proceso de neurogénesis durante 5 o 6 días post-transplante, dicho proceso, se detiene en el transplante después del día gestacional 23 (E23) que en la mayoría de los casos corresponde al día postnatal 1 (Jaeger y Lund, 1980 a y b; Das y Ross, 1986; Bernstein y cols, 1985). Los experimentos en que emplea timidina tritiada revelaron que en algunos casos la histogénesis se extendió uno o dos días más de lo normal, no se observó, sin embargo, alteraciones en el desarrollo Adentro-Afuera (Das y Ross, 1986). En general, se observaron los morfotipos celulares existentes en la corteza cerebral desarrollada in situ (Mufson et al, 1987; Hallas et al, 1980; Das y Ross, 1986).

En lo que respecta a la identidad neuroquímica del transplante, Aguilar (1989) reporta que en el tejido cortical transplantado a los ventrículos, el número de células que respondieron positivamente a la inmunocitoquímica contra el Péptido Vasointestinal Activo (VIP), fue menor a las que generalmente se

encuentran en la Corteza Cerebral normal, incluso en algunos tejidos no se observó tinción alguna. Por otra parte, la inmunocitoquímica contra el Neuropeptido Y (NPY) demostró una mayor cantidad de células que las observadas normalmente. La densidad de neuronas que contienen uno y otro péptido en los trasplantes difirió en forma notable de la que se observa *in situ*, dicha observación contrasta con la realizada por Connor y Bernstein (1986) y Ebner et al (1984) en el sentido de que la diferenciación bioquímica ocurre casi normalmente aunque con cierto retraso temporal.

Morfológicamente, los estudios previos (Jaeger, 1980a, 1980b, 1981, 1982; Jaeger y Lund, 1981; Ebner et al, 1984; Mufson et al, 1987; Bermudez, 1988; Aguilar, 1989; Escobar, 1991) en donde se han realizando trasplantes corticales de diferentes edades (E 16, 17, 18, 19) y de corteza occipital y parietal en la rata y el ratón a receptores adultos, han mostrado organizaciones internas complejas, pero que de alguna manera pueden clasificarse en 2 grupos: 1) el de los trasplantes que presentaron pseudolaminación, caracterizada por la presencia de bandas o zonas celulares paralelas entre sí, de espesor variable separadas por regiones de neuropilo y/o lobulación, en los que la organización láminar no fue evidente, donde se pudieron distinguir agregados celulares, de tamaño y población neuronal variable, pero constituidos cada uno por un tipo celular predominante. Los agregados llegaron a estar separados entre sí por fascículos de fibras lo que resaltaba la apariencia de lobulación del trasplante. En general, morfológica y

citológicamente son muy similares al tejido normal, en ambos casos se observó pleomorfismo neuronal y variedad de tamaños y, 2) el de los trasplantes sin organización, en los que las células se encontraban distribuidas al azar dentro del tejido transplantado.

En cualquiera de los dos tipos de organización citoarquitectónica mencionados, el desarrollo implica procesos de migración celular post-trasplante. Se supone que dichos procesos, no se realizan en forma similar a cuando el tejido se desarrolla *in situ*, ya que en ninguno de los reportes anteriores se menciona una laminación similar a la del adulto.

Los reportes previos indican ausencia completa de laminación en los trasplantes de corteza fetal temporo-parietal, en dicho estudio el proceso del trasplante es tal que el tejido se inyecta en múltiples fragmentos pequeños, lo que produce la pérdida casi completa de la citoarquitectura original del tejido (Escobar et al, 1991). Ya que el trasplante no parece afectar el proceso temporal de neurogénesis del tejido cortical (Jaeger y Lund, 1980a,b; Bernstein et al, 1985; Das y Ross, 1986), es probable que las diferencias en el arreglo citoarquitectónico de los trasplantes corticales con respecto al tejido desarrollado *in situ* se deban a la alteración de las relaciones espaciales neurona-glía dentro de la placa cortical fetal. En particular, se ha sugerido que la interrupción del arreglo radial de las células gliales en el trasplante pudiera ser la causa de la inadecuada laminación de los trasplantes corticales (Lund, 1982).

Lo anterior permite suponer que, las diferentes citoarquitecturas observadas en los trasplantes, podrían deberse a los distintos procedimientos de trasplante utilizados en los diversos estudios arriba citados.

Al considerar estos antecedentes, a Smith et al, (1986 a y b) y a Janeczko (1988), quienes opinan que la glia radial sufre una transformación hacia astrocitos fibrosos debido al trauma de la cirugía y a lo patológico de las condiciones post-trasplante, en el presente trabajo se estudió el efecto del procedimiento de trasplante sobre el patrón citoarquitectónico de la organización cortical. El hecho de la carencia de laminación en los trasplantes disociados sugiere que el método de transplantar pudiera modificar a las guías radiales o a las señales de migración celular durante el desarrollo de la corteza cerebral.

Con base en los antecedentes, el presente estudio tiene como objetivo reevaluar las características de la organización intrínseca y la organización tridimensional de los trasplantes de corteza cerebral colocados en un sitio ectópico del SNC adulto.

4. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- 1. Caracterizar la arquitectura celular de los trasplantes de Corteza Parieto-Occipital fetal realizados con diferentes procedimientos (en bloque y parcialmente disociados) mediante tinciones de Nissl.**
- 2. Caracterizar la distribución y orientación de las prolongaciones astrocíticas en los trasplantes de corteza cerebral fetal realizados con diferentes procedimientos.**
- 3. Correlacionar la citoarquitectura con la distribución de la glía dentro del trasplante.**
- 4. Comparar el efecto de los dos procedimientos de trasplante sobre la citoarquitectura y sobre las prolongaciones astrocíticas.**

5. MATERIALES Y METODOS.

Se utilizaron 15 ratas Wistar macho con un peso de entre 200 y 250 gramos como receptores y embriones obtenidos de ratas de la misma cepa preñadas en el día 17 de gestacion como donadoras. Todos los animales fueron mantenidos bajo un régimen de luz-obscuridad 12:12 con agua y alimento ad libitum.

Durante el procedimiento quirúrgico, realizado bajo condiciones de asepsia, todos los sujetos fueron anestesiados con hidrato de cloral ip a una dosis de 40 mg por cada 100 gramos de peso.

Al animal receptor, se le rapó la cabeza y se le realizó una insición en la piel con objeto de dejar al descubierto la superficie craneana. Mediante cirugía estereotáxica, se le hizo un trepano de 2 a 3 mm de diámetro en la región temporal (AP=0; L= -2; P=0) con el fin de tener acceso al ventrículo lateral derecho (V=-5) (Paxinos, 1989). La perforacion se cubrió con gasa hasta el momento del transplante.

Por otro lado, anestesiada la hembra donadora, se le expusó el útero mediante una laparotomía. Un feto fue extraído a la vez, se le decapitó y se extrajo el cerebro, el cuál se colocó en solución salina estéril. El tejido a transplantar se obtuvo, realizando bajo un microscopio estereoscópico (Olimpus,

serie BH-2) y con la ayuda de microlijeras para retina, cortes verticales en la región parieto-occipital de la corteza cerebral fetal, de tal manera que fuera posible obtener una pieza cúbica de aproximadamente 1 mm³, la cual fue sumergida en solución salina estéril para ser recolectada posteriormente.

Se utilizaron 2 métodos de trasplante: 1) Tejido transplantado en bloque y, 2) Tejido parcialmente disociado por medios mecánicos.

El tejido a transplantar en bloque fue recolectado de la solución salina mediante una cánula 18 GA, mientras que el tejido a disociar se recojió con una cánula calibre 25. En el primer caso, el diámetro de la cánula permitió que el tejido mantuviera su integridad, mientras que en el segundo, el tejido no mantuvo su integridad, pero no se disoció por completo. Una vez que el tejido se tuvo en la cánula, se procedió a su inyección estereotáxicamente. Ya transplantado, la cánula fue extraída, el trépano se cubrió con gelfoam (Upjohn Co) y al piel fue suturada (Figura 13).

El procedimiento completo desde la decapitación hasta la inyección del tejido no duró más de 2 minutos. Al final, la rata madre fue sacrificada con una sobredosis de pentobarbital ic mientras que a la rata receptora se le inyectó 0.2 ml de penicilina im y se le regresó a su caja para su recuperación.

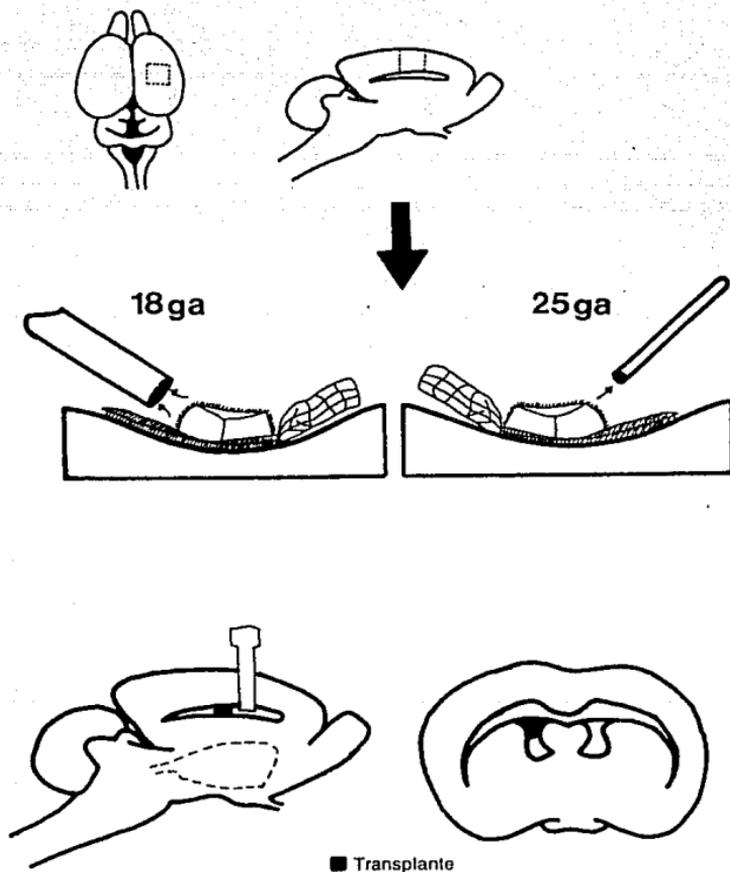


FIGURA 13.

Diagrama que muestra en la parte superior el área aproximada en la Corteza Cerebral total de donde se obtuvo el tejido que se transplantó. En la parte central, se esquematizan las 2 formas en que se colectó el bloque de 1 mm³ de tejido cortical para su posterior inyección en el cerebro receptor adulto (parte inferior del diagrama)

5.1 HISTOLOGIA.

Después de 4 a 6 semanas de la cirugía, los animales transplantados fueron anestesiados con una dosis letal de pentobarbital ip y perfundidos por vía cardíaca con 250 ml de solución salina al 0.9% seguida por 250 ml de fijador de Somogyi (Paraformaldehído 4% -Sigma Inc., Acido Pírico 15% J.T. Baker, en Buffer Fosfato 0.1 M pH 7.2; sales J.T. Baker).

Los cerebros fueron extraídos de la cavidad craneana, postfijados durante una hora y crioprotectados progresivamente en soluciones crecientes de sacarosa al 10%, 20% y 30% en Buffer Fosfato 0.1 M pH 7.2 (PB) hasta su uso. Se obtuvieron cortes coronales de 40 micrometros mediante un crióstato (Reichert-Jung) a una temperatura de -12 grados Celsius. Los cortes obtenidos se recolectaron en PB a manera de formar cuatro grupos seriados con una separación entre corte y corte de 160 micrometros.

Dos de los grupos se procesaron, uno, para tinción de Nissl y otro para inmunocitoquímica contra la Proteína Ácida Fibrilar Glial (GFAP, Incstar, Co), un componente abundante de los filamentos intermedios del citoesqueleto astrocítico y de algunas otras células de la misma línea germinal (Eng et al, 1971; Bignami, 1973; Dahl y Bignami, 1973; Bignami et al, 198, 1981; Doering y Fedoroff, 1982; Houle y Fedoroff, 1983; Fedoroff, 1984; Fedoroff et al, 1984; Eng, 1987; Cameron

y Rakic, 1991).

Todos los cortes destinados para la tinción de Nissl, fueron montados en portaobjetos cubiertos con gelatina (0.2% Sigma Inc.) y se dejaron secar toda la noche, después fueron deshidratados en concentraciones crecientes de alcohol etílico (70%, 95%, 100% J.T. Baker) y rehidratados con el procedimiento inverso con objeto de facilitar una acción mordente. Teñidos con Cresil Violeta (Sigma Co, 0.5% en agua durante 30 segundos) se diferenciaron en alcohol etílico (J.T. Baker) y 0.01% de Acido Acético Glacial (J.T. Baker) nuevamente se deshidrataron en concentraciones crecientes de alcohol (70%, 95%, 100%), aclarados con Xilol (J.T. Baker) y montados los cubreobjetos con Permount (Fisher Scientific Co).

La inmunocitoquímica se realizó mediante el método de Avidina-Biotina de Hsu et al (1981). El anticuerpo primario (anti-GFAP, Incstar, Co) a una dilución de 1:250, se diluyó en una solución PB que contenía 1% de suero normal de cabra (Vector Laboratories Inc) y 0.3% de tritón X-100 (Sigma Inc). Los cortes se incubaron en esta solución a 4 grados Celsius durante 72 horas. Posteriormente, se enjuagaron en PB con 0.9% de Cloruro de Sodio (PBS) (J.T. Baker) y se incubaron en anticuerpo biotinilado de cabra anti-IgG de conejo (Vector Laboratories Inc. 1:200) durante 2 horas a temperatura ambiente. Se enjuagaron en PBS y se incubaron nuevamente durante 2 horas a temperatura ambiente en el complejo Avidina-Biotina, al término se enjuagaron nuevamente en PBS. El

revelado de la actividad de peroxidasa se realizó con una solución Buffer Tris 0.1 M pH 7.2 (Sigma Inc) que contenía 0.05% de Diaminobenzidina (Sigma Inc) y 0.03% de Peroxido de Hidrógeno durante 5 minutos a temperatura ambiente.

La reacción se detuvo al enjuagar repetidamente en PB. Después de la reacción, los cortes se montaron a partir del PB en portaobjetos cubiertos con gelatina (Sigma Inc, 0.2%) y se dejaron secar toda la noche. Al día siguiente, el tejido se deshidrató en concentraciones crecientes de alcohol etílico (70%, 95%, 100%), se aclararon con Xilol y los cubreobjetos fueron montados con Permount (Fisher Scientific Co).

En algunos casos, con el fin de observar la posible relación existente entre somas neuronales y procesos gliales, se realizaron sobre-tinciones de Nissl en laminillas seleccionadas al azar teñidas inmunocitoquímicamente contra GFAP.

5.2 ANALISIS

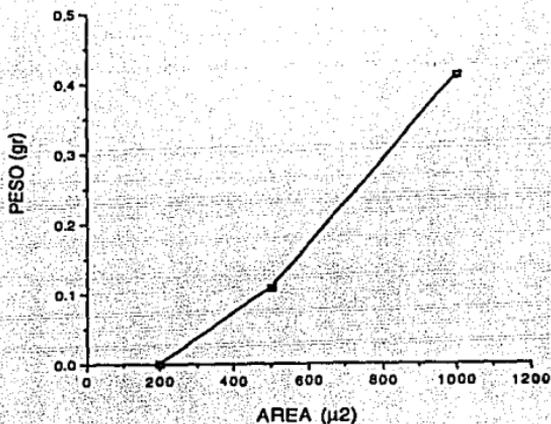
El análisis de los resultados se realizó con un microscopio de luz Olympus (Serie BH-2) y una cámara lúcida mediante los cuáles se realizaron dibujos seriados del área de todo el tejido transplantado. En cada dibujo se marcó suavemente con un lápiz el area ocupada por cada tipo de organización celular. Una vez realizados los dibujos, se recortaron y se pesaron en una balanza analítica (Ohaus) se anotó el peso total del papel recortado. Posteriormente se corto el área correspondiente a cada organización celular y se pesaron

independientemente, se anotó en cada caso el peso obtenido. Los resultados se interpretaron al considerar el peso total como el 100% del área del trasplante. Para calibrar la relación peso-área se utilizó el peso de cuadros de papel equivalentes a 1000, 500 y 200 micrometros cuadrados, dibujados bajo la cámara lúcida a un aumento de 20X. Estos cuadros se pesaron (3 muestras) y se obtuvo una curva de calibración (Figura 14) contra la cual se compararon los datos experimentales.

La existencia de algún tipo de relación neurona-glía se verificó mediante la observación de las laminillas con doble tinción Nissl-GFAP.

El análisis de los patrones de organización celular se realizó mediante la observación de cada uno de los diversos trasplantes y se le agrupó de acuerdo a los tipos descritos previamente en los antecedentes específicos.

CURVA DE CALIBRACION PÉSO-AREA



DATOS PARA LA GRAFICA DE CALIBRACION

x

| | | | | | |
|---|--------------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | 1000 μ^2 | 0.409 g | 0.416 g | 0.411 g | 0.412 g |
| 2 | 500 μ^2 | 0.110 g | 0.105 g | 1.106 g | 0.107 g |
| 3 | 200 μ^2 | 0.001 g | 0.001 g | 0.001 g | 0.001 g |

23 mm = 1000 μ

FIGURA 14.

Curva de calibración realizada para establecer la relación existente entre peso y área del tejido transplantado. En el eje de las abscisas se encuentra el peso en gramos y en el eje de las ordenadas el área en μ^2 .

Cada punto en la gráfica es el promedio de los tres datos experimentales indicados en la tabla inferior.

6. RESULTADOS

Todos los trasplantes sobrevivieron, debido a la presión y al movimiento del líquido cefalorraquídeo en el interior de la cavidad ventricular, el tejido llegó a establecerse ocasionalmente en regiones alejadas del sitio de inyección. Del total de trasplantes considerados (n=15) siete se localizaron entre el ventrículo lateral y el tercer ventrículo, que desplazaron a la fimbria (bloque 2, 7, 8, 1, 6, 9 y disociado 5), seis desviaron a los núcleos talámico posterior y laterodorsal talámico, y se desarrollaron entre estos y el giro dentado logrando incluso penetrar al tercer ventrículo, (bloque 3, 10 y 5, disociados 2, 3 y 4). uno ocluyó todo el ventrículo lateral ipsilateral en su parte rostral (disociado 1), otro se situó entre el cuerpo caloso y el núcleo septal rostral (bloque 4; Tablas 4 y 5).

6.1 Consideraciones generales.

El exámen macroscópico del cerebro de todos los animales transplantados mostró distensión de los ventrículos laterales que varió de moderada a severa. Se observó que no existían diferencias significativas entre el área total de los trasplantes disociados y los trasplantes en bloque (Figura 15).

Tabla 4

TRANSPLANTES EN BLOQUE DE CORTEZA PARIETAL FETAL EN RATAS ADULTAS

| NOMBRE | LOCALIZACIÓN | ipsi | contra | Organizacion aparente |
|--------|---|------|--------|-----------------------|
| 1 | Tercer ventriculo lateral Fimbria Fornix y ventriculos laterales | *** | *** | Mixto |
| 2 | Tercer ventriculo dorsal Fimbria y ventriculos laterales | *** | *** | Mixto |
| 3 | Tercer ventriculo dorsal Fimbria y ventriculos laterales | *** | | Mixto |
| 4 | Ventriculo lateral caudal tercer ventriculo, Fimbria | *** | * | Mixto |
| 5 | Tercer ventriculo dorsal Ventriculo lateral | *** | | Mixto |
| 6 | Ventriculo lateral | | *** | Mixto |
| 7 | Fimbria Fornix | *** | | Sin orden |
| 8 | Fimbria Fornix | | *** | Mixto |
| 9 | Ventriculo lateral | *** | | Mixto |
| 10 | Ventriculos laterales tercer ventriculo Tercer Ventriculo Dorsal Fisura Hipocampal | *** | *** | Mixto |

Tabla 5

TRANSPLANTES DISOCIADOS DE CORTEZA PARIETAL FETAL EN RATAS ADULTAS

| NOMBRE | LOCALIZACIÓN | ipsi | contra | Organización aparente |
|--------|---|------|--------|-----------------------|
| 1 | Ventriculo lateral Fimbria fornix | *** | | Sin orden |
| 2 | Ventriculo lateral | *** | | Mixto |
| 3 | Fimbria Fornix Tercer ventriculo dorsal | *** | | Mixto |
| 4 | Ventriculos laterales tercer ventriculo Tercer Ventriculo Dorsal Fisura Hipocampal | *** | *** | Mixto |
| 5 | Ventriculo lateral Fimbria y fisura hipocampa | *** | | Sin orden |

TABLAS 4 Y 5

Se resumen las principales características macroscópicas observadas en los trasplantes en bloque y disociados respectivamente.

En la primer columna se menciona el número del trasplante, en la segunda, la localización en el interior del sistema ventricular y las regiones adyacentes del cerebro receptor con las que estableció límites. En las dos siguientes columnas se ilustra con cruces la cantidad de tejido encontrado tanto ipsi como contralateralmente al sitio de inyección, evaluándose de la siguiente manera. + = Escaso, ++ = Moderado, +++ = Abundante.

A continuación, en la última columna se menciona a grandes rasgos la organización citoarquitectónica general del trasplante cortical.

PROMEDIO DEL AREA TOTAL DEL TEJIDO TRANSPLANTADO

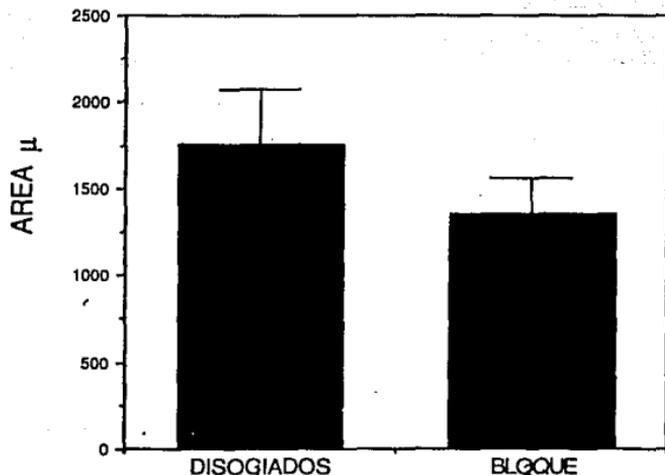


FIGURA 15.

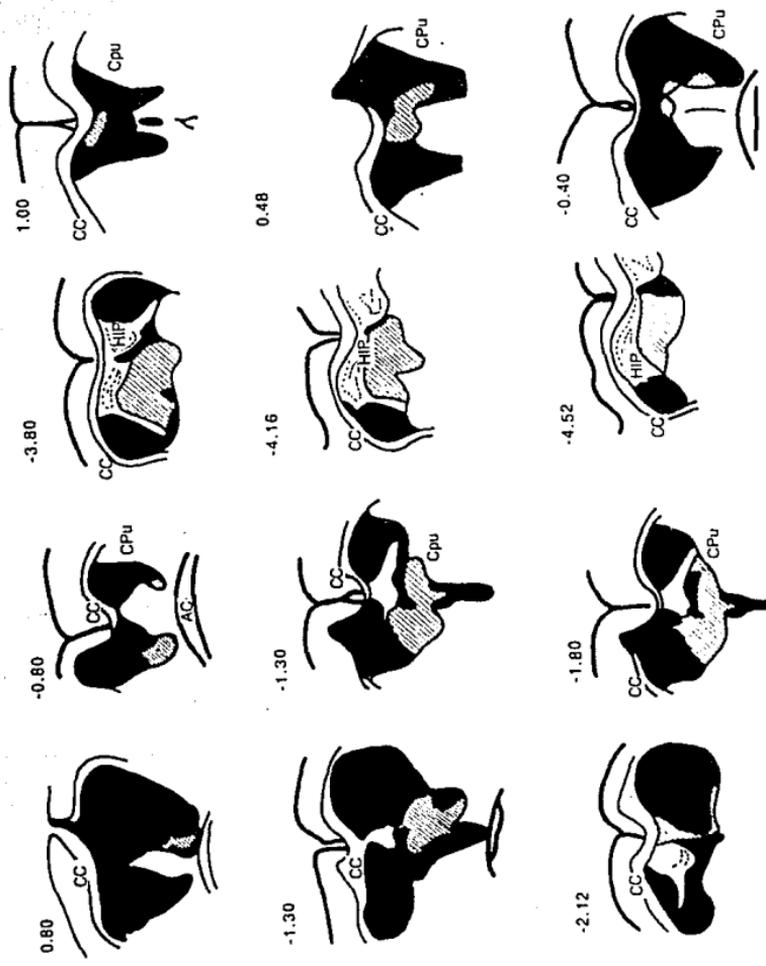
Promedio del área total final del tejido transplantado. En el eje de las abscisas se graficó el área en micras, mientras que en el eje de las ordenadas se encuentra en la columna 1, el promedio de todas las áreas finales de los transplantes disociados ($X = 1756.5 \mu^2 \pm 316.68$) y en la columna 2, el promedio de todas las áreas finales de los transplantes en bloque ($X = 1347.0 \mu^2 \pm 212.05$).

En todos los casos, se observó abundancia de neuronas de tamaño y morfologías variadas. En algunos casos se observó un borde en el tejido transplantado constituido por una capa de células ependimarias, posiblemente desprendidas de las paredes ventriculares como resultado del proceso de trasplante. En todos los casos existió un borde limitante consistente en una zona de neuropilo constituido de somas gliales reactivos a GFAP, cuyas prolongaciones formaban una red de células distribuida de manera continua y de grosor variable, localizada principalmente en el límite con la cavidad ventricular. Esta misma organización pero más angosta, se observó en la interfase receptor-trasplante.

En algunos de los trasplantes se observaron macrófagos. En los trasplantes en bloque estas células se localizaron solamente en la interfase con el tejido receptor, mientras que en los trasplantes disociados se encontraron distribuidas en el interior del tejido.

6.2 Trasplantes en bloque

En general, estos trasplantes se localizaron en los ventrículos laterales y el tercer ventrículo entre $B = 0.80$ y $B = -4.52$ (figura 16, Paxinos, 1989) y mostraron tendencia hacia la fragmentación. En los trasplantes fragmentados, cada pedazo se desarrolló con identidad propia.



TRANSPLANTES EN BLOQUE Figura 16

FIGURA 16.

Reconstrucciones realizadas con cámara lúcida de cuatro trasplantes en bloque seleccionados al azar en tres niveles diferentes. En la línea superior se encuentra la región anterior, en la línea media la región central del trasplante y en la línea inferior la región posterior del mismo. El área sombreada en todos los dibujos representa al tejido transplantado y la zona negra al espacio ventricular. En la esquina superior izquierda se encuentra la coordenada respecto a bregma según Paxinos (1989).

Cx = Corteza Cerebral.

CL = Cuerpo Calloso.

AL = Comisura Anterior.

Hip = Hipocampo.

CPU = Caudado-Putamen.

6.2.1 Análisis morfológico.

Casi todos de los trasplantes (a excepción del trasplante 7) mostraron solo un tipo de organización celular, se observaron regiones láminadas, lobuladas y sin orden dentro de un mismo tejido. El porcentaje de cada organización varió de trasplante a trasplante (Ver tabla 6).

Porción laminada.

La región laminada del trasplante estaba caracterizada por la presencia de 3 a 5 bandas concéntricas o paralelas de aproximadamente 200 μm de grueso, organizadas como sigue: 1) Una banda externa constituida por fibras largas reactivas al GFAP organizadas radialmente, 2) Una banda media que contenía neuronas redondas de tamaño mediano a grande, densamente empaquetadas y organizadas radialmente y 3) una banda interna, constituida por un núcleo de neuropilo donde se observaban abundantes somas gliales y fibras divergentes largas. Ocasionalmente el orden se invertía, de tal manera que se llegó a observar una banda o núcleo interno constituido por neuronas y algunos somas gliales (Figura 17 C-D; Figura 18 A-B).

Tabla 6

PORCENTAJES COMPARATIVOS DE ORGANIZACIÓN EN LOS TRANSPLANTES EN BLOQUE

| Transplante | % Sin orden | % Lobulado | % Laminado |
|-------------|-------------|------------|------------|
| 1 | 49.97 | 27.11 | 23.39 |
| 2 | 32.11 | 43.81 | 24.16 |
| 3 | 15.66 | 75.77 | 8.62 |
| 4 | 58.14 | 13.74 | 28.51 |
| 5 | 21.28 | 52.24 | 26.60 |
| 6 | 47.25 | 12.93 | 39.12 |
| 7 | 100 | | |
| 8 | 23.32 | 28.78 | 48.03 |
| 9 | 67.65 | 21.28 | |
| 10 | 38.52 | 58.97 | 1.15 |
| PROMEDIO | 45.39 | 33.46 | 19.95 |

TABLA 6.

Porcentajes comparativos de la organización celular en los transplantes en bloque.

En la primer columna se encuentra el número de transplante correspondiente al animal del mismo número; en las columnas siguientes se observa el porcentaje de área de los transplantes que presentan alguna organización celular con relación al área total del tejido transplantado. El número al pie de cada columna representa el porcentaje promedio total de cada organización.

Porción lobulada.

Una zona con esta organización se presentó en casi todos los trasplantes (excepto en el 7). No se observó lobulación total en ninguno de los casos. Se pudo distinguir dentro del tejido varios agregados celulares separados entre sí por haces de fibras GFAP positivas que originaban la apariencia de lobulación. En algunos casos, los haces tenían un origen en el centro del implante, esta característica le daba el aspecto de formar una estructura radial. Se podían distinguir agregados celulares de tamaño y población neuronal variable pero constituidos cada uno por un tipo celular predominante. Las células reactivas al GFAP no mostraron alguna orientación ni prolongaciones largas, en ocasiones, conformaron cúmulos ubicados en diversos sitios del trasplante de donde partían las fibras que originaron los haces.

Porción sin orden.

Esta zona se caracterizó por presentar principalmente células de tamaño pequeño a mediano. Todos los trasplantes presentaron este tipo de organización. No se observaron haces de fibras que dividían el interior ni organizaciones columnares. Con la inmunohistoquímica al GFAP se observó que las células reactivas eran pequeñas distribuidas aleatoriamente en el interior del tejido y sus prolongaciones eran igualmente pequeñas y no presentaban orden alguno (Figura 17 A-B; Figura 18 C-D).



Figura 17

FIGURA 17.

Micrografías de algunos de los cortes obtenidos de trasplantes disociados (A-B) y de trasplantes en bloque (C-D) teñidos con Nissl.

En los trasplantes disociados se observó abundancia de células pequeñas distribuidas aleatoriamente en el tejido indicadas con estrellas (A-B), mientras que en los trasplantes en bloque, una banda de células grandes fue claramente apreciable (indicada con flechas en C) que alternaba con bandas escasas de células (C-D). En los tejidos B,C y D se puede ver un borde constituido por células endodérmicas (indicadas con asteriscos) pertenecientes al límite de la cavidad ventricular de animal receptor.

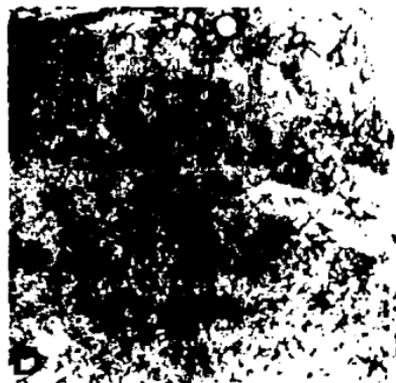
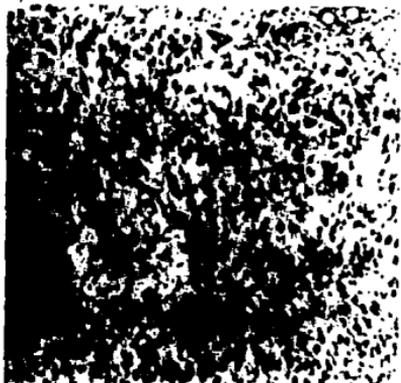
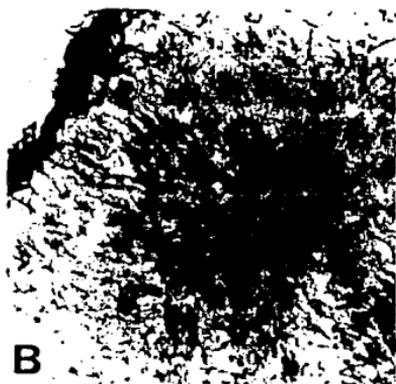
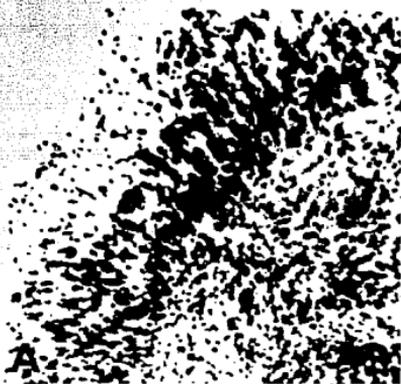


Figura 18

FIGURA 18.

Micrografías en donde se puede comparar la organización celular observada en los trasplantes laminados con Nissl (A) y la organización glial en estos (B) con la organización celular en Nissl en los trasplantes disociados (C) y su correspondiente en GFAP (D). En ambos casos se trata de los mismos campos. Tanto en A como en C se pueden ver las diferencias en la citoarquitectura, mientras que en B y D quedan ejemplificadas la distribución glial y sus diferencias en la longitud y orientación de las prolongaciones reactivas.

6.3 Transplantes disociados.

En general se localizaron en los ventrículos laterales entre B= 1.70 y B= 5.20 (Paxinos, 1989; Figura 19). No mostraron tendencia a fragmentarse. A excepción del transplante 4 ninguno presentó porciones laminadas. Solo dos tejidos (transplantes 1 y 4) presentaron ausencia de organización laminada o lobulada, mientras que los transplantes 2,3 y 4 mostraron además una organización lobulada (Tabla 7).

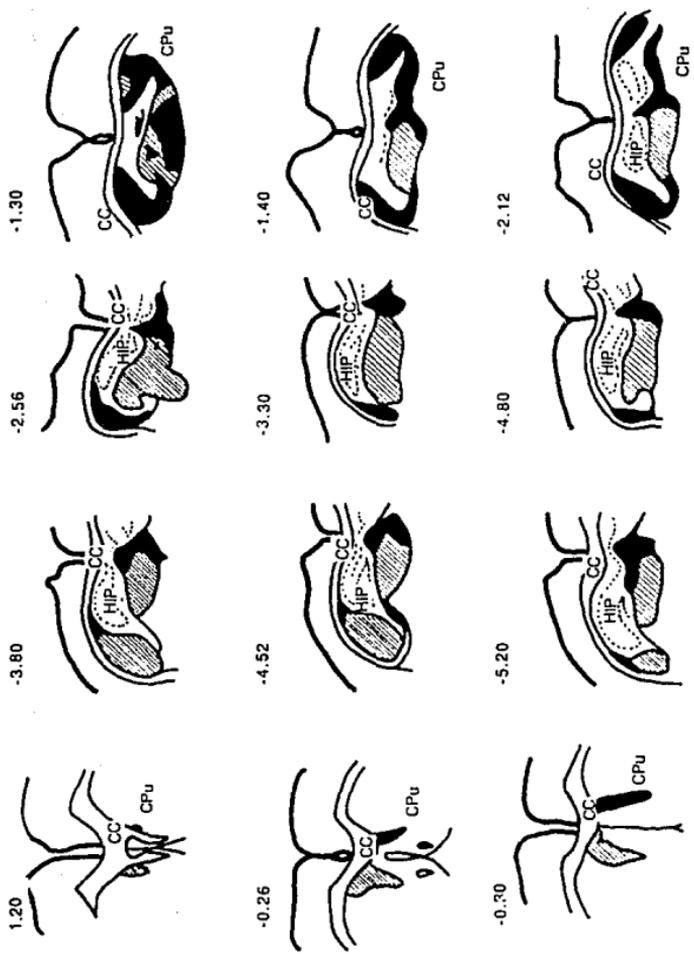
6.3.1. Análisis morfológico.

Porción sin orden.

Las neuronas existentes en estas regiones mostraron variabilidad de tamaños prevaleciendo las células pequeñas. Ninguna presentó algún tipo de organización y se distribuyeron homogéneamente al interior del tejido. La cantidad de células reactivas al GFAP varió de moderada a severa, ninguna de las prolongaciones gliales presentó alguna orientación particular.

Porción laminada.

Esta organización se presentó en la porción más pequeña de un transplante



TRANSPALANTES DISOCIADOS Figura 19

FIGURA 19.

Reconstrucciones realizadas con cámara lúcida de 4 trasplantes disociados tomados al azar. Para detalles véase la figura 16.

fragmentado. La laminación fue concéntrica y se observaron tres bandas: 1) neuropilo, 2) Neuronas y, 3) Neuropilo. Las neuronas en la banda central presentaron una ordenación radial. Este trasplante en la banda externa del neuropilo mostró, células y fibras GFAP positivas que formaron una organización reticular densa, mientras que el núcleo o banda central formaba un cúmulo compacto de donde salían fibras divergentes largas.

En todos los casos, se llegó a observar que la densidad y el tamaño celular cambiaba drásticamente al interior de un mismo trasplante.

Porciones lobuladas

Al interior de estas prolongaciones se observaron agregados de tamaño y población neuronal variable, constituidos por algún tipo predominante, por ejemplo de células pequeñas y esféricas separadas entre sí por fibras GFAP positivas, rara vez estos haces de fibras tuvieron un origen particular y dividían al tejido de manera azarosa, en ciertos casos se observaron algunos haces que cruzaban el trasplante de manera particular y causaron el efecto de una manera sinusoide o de forma de tubo plegado sobre si mismo donde los bordes estaban limitados por fibras GFAP positivas.

Tabla 7

PORCENTAJES COMPARATIVOS DE ORGANIZACION EN LOS TRANSPLANTES DISOCIADOS

| Transplante | % Sin orden | % Lobulado | % Laminado |
|-------------|-------------|------------|------------|
| 1 | 100 | | |
| 2 | 51.09 | 48.90 | |
| 3 | 6.74 | 93.37 | |
| 4 | | 97.48 | 2.76 |
| 5 | 100 | | |
| PROMEDIO | 45.52 | 33.46 | 19.95 |

TABLA 7.

Porcentajes comparativos de la organización celular en los transplantes disociados.

En la primer columna se encuentra el número de transplante correspondiente al animal del mismo número. En las columnas siguientes se observa el porcentaje de área de las organizaciones celulares observadas dentro del tejido transplantado.

Al pié de cada columna se encuentra el porcentaje total promedio de cada organización.

6.4 Características de las prolongaciones citoplásmicas gliales.

Se compararon las longitudes promedio de las prolongaciones citoplásmicas gliales reactivas al GFAP en transplantes disociados que no presentaron pseudolaminación y en transplantes en bloque pseudolaminados y se encontraron diferencias significativas en lo que respecta a la longitud de las prolongaciones gliales que en los transplantes en bloque eran más largas (Figura 20).

En lo que respecta a la orientación de las prolongaciones GFAP positivas, en los transplantes que no mostraron pseudolaminación, no fue posible observar que mantuvieran alguna orientación en particular, se desarrollaron en direcciones similares y cortas (figura 21 C y D y 24), mientras que en los transplantes pseudolaminados, las prolongaciones gliales mostraron tendencia a extenderse hacia las regiones neuronales (Figura 21 A y B y 24) mientras que hacia la región no neuronal las prolongaciones eran cortas y formaban plexos fibrosos, en ocasiones densos (Figura 23 B y F)

En las preparaciones contra teñidas GFAP-Nissl, se observó que existía cierta relación entre las fibras reactivas a GFAP (prolongaciones citoplásmicas gliales) y las neuronas. Esta relación en los que la organización laminar no fue evidente, no se pudo distinguir ningún tipo de agregado celular, de tamaño y

PROMEDIO DE LA LONGITUD DE LOS BRAZOS GLIALES

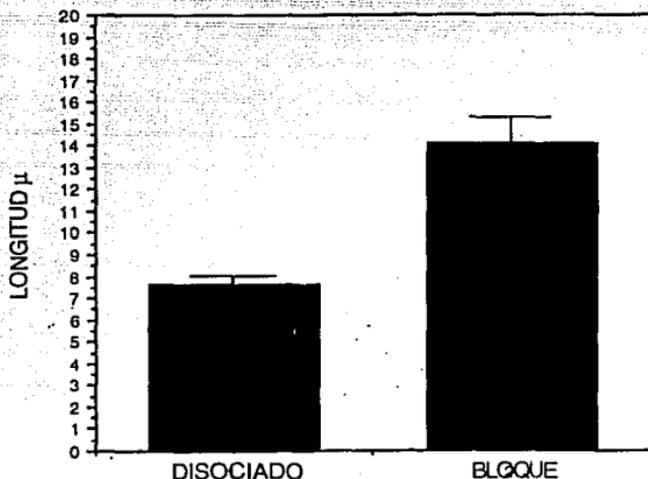


FIGURA 21

FIGURA 20.

Promedio de longitud de los brazos gliales medidos en los dibujos de cámara lúcida.

En el eje de las abscisas se encuentra la longitud en micras, mientras que en el eje de las ordenadas; en la primer columna se observa el promedio de la longitud de los brazos gliales de 4 transplantes disociados seleccionados al azar ($X = 7.61 \pm 0.42 \mu$) en la segunda columna se observa el promedio de la longitud de los brazos gliales de 4 transplantes en bloque seleccionados al azar ($X = 14.1 \pm 1.2 \mu$) $F = 8.052$; $T = 5.116$; $P > 0.05$.

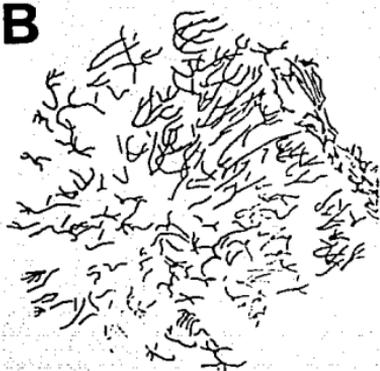
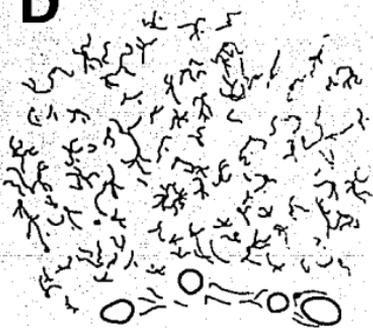
A**B****C****D****NISSL****GFAP****Figura 20**

FIGURA 21.

Dibujos de cámara lúcida de dos ejemplos de trasplantes. A y B representan un trasplante laminado mientras que C y D a uno que no presentó ningún orden celular particular. El tipo de tinción se menciona al pie de cada columna. En ambos casos los campos dibujados son los equivalentes.

Es posible observar las diferencias de organización tanto celular en las tinciones de Nissl con las diferencias en la organización y distribución de las prolongaciones gliales en el GFAP.

poblacion neuronal variable, pero constituidos cada uno por un tipo celular predominante. Los agregados llegaron a estar separados entre si por fasciculos de fibras lo que resaltaba la apariencia de lobulación del transplante. En general, citológicamente son muy similares al tejido normal, en ambos casos se observó pleomorfismo neuronal y variedad de tamaños. En ocasiones aparente en las regiones del tejido transplantado que mostraron alguna organizacion celular tipo columnar.

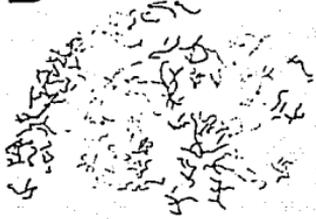
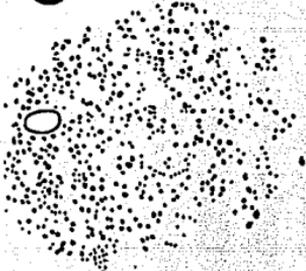
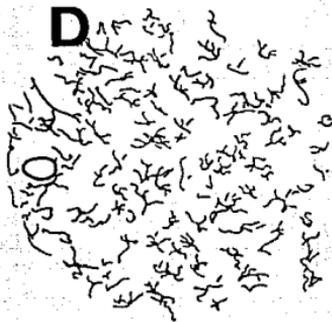
A**B****C****D****E****F****NISSL****GFAP**

Figura 22

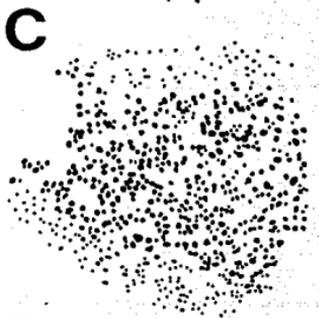
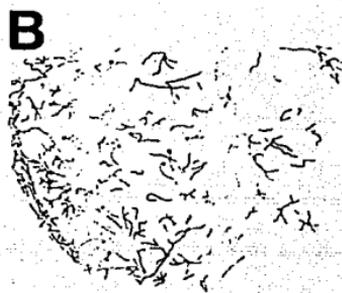
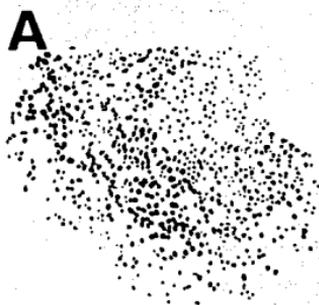
FIGURA 22.

Dibujos realizados con camara lucida de tres trasplantes disociados.

A y B constituyen un mismo trasplante lo mismo ocurre para los siguientes ubicados en un mismo renglon. La primer columna representa la apariencia del tejido teñido con Nissl, en tanto que la segunda representa el mismo campo pero observado con inmunocitoquímica contra GFAP.

En Nissl se puede apreciar la carencia de algun tipo de organizacion celular, predominando en el tejido las celulas pequeñas y medianas (comparar con aquellas observadas en los trasplantes laminados).

En la inmunocitoquímica se puede observar que las prolongaciones gliales son cortas y no presentan ninguna orientacion en particular.



NISSL

GFAP

Figura 23

FIGURA 23

Dibujos realizados con cámara lúcida de tres transplantes laminados.

A y B constituyen un mismo trasplante, lo mismo ocurre para C-D y E-F. La primera columna representa la apariencia del tejido teñido con Nissl, en tanto que la segunda el mismo campo pero observado con inmunocitoquímica contra GFAP.

Se puede apreciar en el Nissl la presencia de una banda de células grandes (indicadas por flechas) y moderadamente compactas que alternan con otra de células pequeñas y escasas en todos los tejidos (indicadas por asteriscos).

En el GFAP se observa que en la región correspondiente a la banda de células grandes las prolongaciones gliales son largas y paralelas (D) o simplemente más largas (F), mientras que en la zona que correspondería a las células pequeñas las prolongaciones son cortas y sin ninguna orientación particular (B y F).

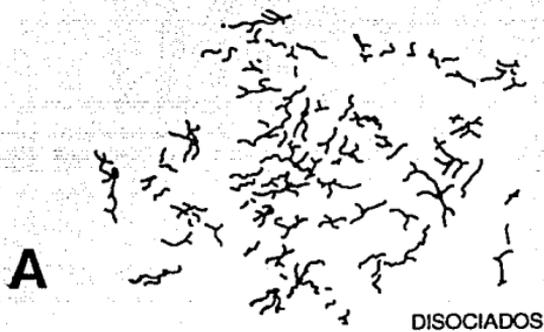


Figura 24

FIGURA 24.

Dibujo realizado con cámara lúcida de las prolongaciones gliales en un trasplante disociado (A) y en un trasplante en bloque (B). Se observa que las prolongaciones gliales en el primer caso fueron y no se observó que tuvieran alguna dirección, mientras que en el segundo caso las prolongaciones fueron significativamente más largas y tuvieron alguna orientación.

7. DISCUSION.

7.1 ASPECTOS GENERALES.

Los resultados de este estudio muestran que el tejido embrionario que contiene una mezcla de células neuroepiteliales y neuroblastos, es capaz de sobrevivir al trauma de la manipulación durante el trasplante y continuar su proceso de maduración. Esta observación confirma lo encontrado en otros reportes, mismos que concuerdan en que tanto el inicio como el término de la generación de las células en el tejido transplantado continua de manera normal después de sufrir un breve retraso, probablemente causado por las condiciones en las que se encuentra el tejido transplantado los primeros 2 a 5 días postransplante (Jaeger, et al, 1980a y b, 1981, 1982; Ebner, 1983; Patel, 1983; Das y Ross, 1986; Rier, 1986; Hatten, 1985, Rier et al, 1983; Guillian y Lachman, 1985; Das, 1985; Das et al, 1983).

En todos los casos, se observó un incremento de volumen en el tejido transplantado con respecto al volumen inicial inyectado a los ventrículos laterales. Este aumento podría deberse principalmente al fenómeno de proliferación celular

postransplante (Das, 1990). De acuerdo con Das (1974), los trasplantes de Corteza Cerebral extraídos entre los días gestacionales 14 y 20 producen los trasplantes con mayor incremento de volumen, debido a que en estas fechas tiene lugar el punto máximo de la proliferación celular. Este incremento en volumen podría ser la causa de la distensión ventricular debido al bloqueo de la circulación normal del líquido cefalorraquídeo. Observaciones similares han sido reportadas previamente (Wiegen y Gash, 1988; Aguilar, 1989).

Aunque un análisis detallado de la morfología celular no fue el objeto de este trabajo, es importante mencionar que, aparentemente, los principales morfotipos celulares corticales están presentes en el trasplante, aunque muestran alteraciones en la posición somática y localización axonal. Jaeger (1980a y b, 1981) menciona que al no existir una relación normal entre el tiempo de generación entre los sistemas corticales aferentes y eferentes y la posición neuronal, algunas características morfológicas típicas podrían estar alteradas. Lo que obliga a considerar con precaución cualquier clasificación morfológica que se fuera a realizar.

7.2 Citoarquitectura neuronal.

Como se puede observar en los resultados, con excepción de 3

transplantes, todos los tejidos mostraron en menor o mayor proporción tres patrones citoarquitectónicos: lobulados, laminados y sin organización. Aunque en los tejidos transplantados en bloque existió una mayor proporción de transplantes con organización laminar, mientras que en los transplantes de tejido disociado no se observó este tipo de organización. Es posible que debido al ángulo de corte del cerebro transplantado ocurra algún tipo de enmascaramiento del patrón de organización celular lo que provocaría que de existir láminas en otras regiones del trasplante, por lo que se aprecia una organización lobular o incluso una carencia de organización.

El patrón laminar observado en los transplantes en bloque puede deberse a que en el momento de extracción la corteza cerebral fetal (E17) estaba constituida por la Zona Marginal, la Subplaca y la Placa Cortical. Esta última está caracterizada por células densamente empaquetadas y arregladas verticalmente de manera similar a las células que se observan en la banda neuronal de los transplantes laminados, mientras que tanto la Subplaca como la Zona Marginal están constituidas por fibras tangenciales y pocas células. Ambas láminas son temporales y desaparecen poco después del nacimiento (Boulder Committee, 1970).

Durante los estadios tempranos del desarrollo de la Corteza Cerebral, los neuroblastos son desplazados, de la Zona Ventricular a la Placa Cortical, por las células neuroepiteliales mismas y por movimientos de migración pasivos (Mc Connell, 1988). Conforme la distancia se incrementa, al aumentar el grosor de la

corteza en formación, la migración comienza a ser guiada por las células de la glía radial.

Al momento de realizar algún tipo de lesión en el SNC se induce cierto grado de alteración y muerte celular lo que provoca una reacción de activación glial. Esta reacción esta caracterizada por un incremento en el índice de proliferación celular, hipertrófia, aumento en la síntesis de la Proteína Fibrilar Acídica Glial (GFAP), elevada actividad de la Oxido-Reductasa y de la glutamina Sintetasa, entre otras cracterísticas (Fedoroff, 1986; Jacobson, 1988; Rier et al, 1986; Mathewson y Berry, 1985; Janezcko, 1988; Miyake et al, 1989; Hatten et al, 1991; Eng et al, 1987, 1978, 1981; Eng y De Armond, 1982; Amaducci et al, 1981; Bignami et al, 1980, 1972; Bignami et al, 1981).

Se ha propuesto (aunque en el feto y en el neonato la reacción glial a la lesión no está bien caracterizada) (Hatten et al, 1991) que debido a esta reacción inducida por el trauma de la manipulación, la glía radial termina su diferenciación hacia astrocitos fibrosos de manera prematura (Connor y Bernstein, 1986). Es probable que sea muy similar a la observada en el adulto (Janezcko, 1988; Landry, 1990). De hecho, es posible que en este proceso participen factores como la interleucina 1 (IL-1) secretada por la microglía y otras células sanguíneas como los macrófagos, relacionadas con la ruptura de la barrera hematoencefálica y el sangrado asociado a este proceso. Guilian y Lachman (1985) reportan que estos factores pueden regular la proliferación y maduración astrocítica y sugieren que en

los bordes de los trasplantes (en donde la reacción contra el GFAP es mas intensa), es en donde ocurre inicialmente una diferenciación temprana hacia astrocitos, lo que provoca la transformación de células inicialmente de soporte hacia células activadas (Rier et al, 1983; Rier, 1986), proceso que se extiende en poco tiempo a todo el tejido (Janezcko, 1988) y ejerce además, un efecto benéfico sobre las células sobrevivientes en el trasplante y reduce la intensidad de la lesión (Lindsay, 1986). Esto alteraría, sin embargo, las relaciones neurona-glía de manera irreversible e impediría la formación de las siguientes láminas corticales con lo que se mantendría, entonces, sólo la lámina ya formada: la placa cortical.

El procedimiento del trasplante en bloque podría, entonces, no alterar la organización primaria de estas láminas inicialmente formadas por la migración en conjunto de los neuroblastos.

Es probable que los tejidos que mostraron organización lobular sean aquellos en los que el ángulo de corte oculto la laminación de la Placa Cortical lo que probablemente evidencia el papel que juegan las Moléculas de Adhesión Celular (CAM) durante el desarrollo.

En tejidos Desarrollados *in situ* se ha observado que las células que presentan CAM similares se agrupan en cúmulos que aparentemente regulan su tamaño y movilidad y modulan su adhesividad con la Proteínas de la Matriz Extracelular (SAM) (Edelman, 1987, 1983, 1984, 1985, 1976). Este proceso que quizá también ocurra en los trasplantes de tejido nervioso, explicaría de alguna

manera lo observado en este y otros trabajos (Das y Ross, 1986, Caviness, 1982; Aguilar, 1987, Altman y Anderson, 1973) donde se observan cumulos de ciertos tipos celulares que han migrado a diversas regiones del trasplante que mantienen su organización primitiva en rosetones y cúmulos, por otro lado, este fenómeno aunado a la maduración temprana de la glía radial podría afectar la expresión de genes historreguladores (Edelman, 1987; Smith et al, 1986) que así modificarían el fenotipo final de las células en el trasplante, lo que explicaría las observaciones de Aguilar (1987) y de Connor y Bernstein (1986) referentes a la expresión de péptidos atípicos en algunas células corticales.

En los trasplantes completamente desorganizados, la alteración de las láminas primarias puede ser tan importante que el tejido se desorganice por completo, y al carecer de las señales adecuadas para su diferenciación y maduración, las células no adquirieran sus características finales típicas, predominado en ellos celulas alteradas.

7.3. Organización glial.

En las porciones laminadas, bandas ricas en glía alternaban con aquellos de neuronas.. En esas bandas, donde rara vez se observaron somas neuronales, las prolongaciones gliales eran largas y poseían frecuentemente orientación

paralela entre sí, perpendicular al borde del transplante. En este último se observaron abundantes somas y sus prolongaciones formaban un retículo denso. Esta organización es probable que sea una reminiscencia del patrón presentado en condiciones normales por la glía radial para una migración celular adecuada. Los astrocitos, al completar su diferenciación y no sufrir alteraciones severas en su organización, mantienen aquella distribución primitiva. Sin embargo, debido a que el término de su proceso de diferenciación incluya cambios estructurales y funcionales, pierde su capacidad de directriz en la migración y los neuroblastos, al no identificar entonces al nuevo tipo celular, interrumpen su migración.

7.4 Correlación neurono-glial

Como se observó en los resultados, en algunos trasplantes fue posible encontrar columnas de células, que quizá, correspondan a reminiscencias de grupos de células que migran sobre una misma guía radial. Patrón característico de la corteza cerebral inmadura. La apariencia radial observada en algunos casos, puede ser el resultado del aislamiento de una columna respecto de otras. Poco a poco durante el desarrollo, el crecimiento del neuropilo separa los grupos celulares alineados en sus guías, aunque cierta organización radial se conserva.

Hatten (1985) ha investigado el papel de las relaciones neurono-gliales en

la diferenciación de la glía, observó que la presencia de neuronas regula tanto la proliferación como la síntesis de DNA y GFAP en las células gliales, mientras que por debajo de una relación 4:1 neurona-glía, se observa proliferación glial. Los niveles de GFAP, la cantidad de poros iónicos, de factores neurotróficos, y otros, están regulados por esta interacción. En un trasplante, es posible que las cantidades relativas de las células sufran alteraciones irreversibles. Lo que se reflejaría en un cambio en las relaciones neurono-gliales que a su vez originaría alteraciones citoarquitectónicas.

Lund (1982) sugiere que esta alteración en las relaciones neurono-gliales, aunado a la falta de aferentes talámicas primarias durante el desarrollo, puede ser la causa inicial de la indebida organización en el trasplante.

7.5. Implicaciones clínicas.

Caviness y Williams (1985) mencionan que existen al menos 2 aberraciones en el patrón celular cortical como consecuencia de la interrupción de la relación neurono-glial durante el desarrollo: las Ectopias y las Heterotopias.

Las ectopias denotan un patrón celular en el que las neuronas están dispuestas en posiciones externas a las capas corticales, y se encuentran células incluso en los espacios leptomeningiales, mientras que las heterotopias se refieren

a patrones anormales en los que las neuronas están fuera de sus posiciones normales. Es posible que este tipo de alteraciones se deba a las interrupciones en la migración neuronal, mientras que el primer tipo incluía errores en la organización de las tres hojas blastodérmicas, se tratará en extenso el segundo tipo de alteraciones debido a su semejanza citoarquitectónica con aquella observada en los trasplantes realizados en este trabajo:

Las heterotopias agrupan a 3 malformaciones:

1. Lisencefalia clásica
2. Malformación Walker-Walburg
3. Malformación asociada al síndrome Zellweger.

En las dos primeras malformaciones, se observa una alteración en casi toda la Corteza Cerebral. Solo las células que corresponden a las laminas V y VI parecen desarrollarse normalmente. En ambos casos la corteza cerebral resultante es agrífica o paquígrfica.

La lisencefalia clásica se caracteriza por la pérdida del arreglo columnar en las zonas distales a la región de perfusión de los canales arteriales grandes, mientras que en las zonas cercanas no se observan alteraciones. La interfase entre la zona normal y la anormal se distingue por su carencia casi absoluta de células neuronales y la abundancia de astrocitos activos y vasos sanguíneos pequeños. Lo cual es congruente con un área de necrosis tisular. No existe pérdida del patrón columnar.

Se ha propuesto que la razón de este patrón anómalo es la hipoperfusión vascular, que destruye los límites inferiores de la corteza e interrumpe así la continuidad del proceso glial.

La malformación Walker-Warburg difiere substancialmente de la lisencefalia clásica en el sentido de que incluye a todo un hemisferio y no a ciertas áreas restringidas. Típicamente, existe una depositación extensa de colágena y otros elementos mesenquimatosos que bloquean el espacio subaracnoides y producen hidrocefalia, al tiempo que los elementos mesenquimatosos continúan creciendo, prolongaciones de éstos penetran profundamente en la Corteza Cerebral y estructuras subcorticales, mientras que una violenta reacción glial se va desarrollando simultáneamente, debido a que este proceso ocurre durante la fase de migración celular, ésta, se ve interrumpida totalmente. Quizá la transformación de la glía radial hacia astrocitos activados sea el principal fenómeno que interviene en esta malformación.

En lo que respecta a la malformación Zellweger, ésta, está restringida al patrón de giros corticales en la Corteza Cerebral. Es bilateralmente simétrica y se localiza principalmente en las regiones centrosilvianas. El patrón celular que se observa en esta malformación consiste en gran cantidad de neuronas de todos tipos localizadas fuera de lugar a todo nivel en la corteza. Sugiere que la migración celular es alterada sin ser interrumpida. Sólo parece afectar a las células postmitóticas en etapa migratoria. En general, se la ha asociado a un desorden

del metabolismo de los lípidos. De acuerdo con esto, la anomalía metabólica afecta las propiedades de membrana de los elementos gliales y neuronales que modifican directa o indirectamente la distribución postmitótica típica.

Es probable entonces que los trasplantes, manipulados de tal forma que se alteren sus patrones gliales, tengan utilidad como un modelo experimental de dichas alteraciones. Donde se puedan estudiar con mayor detalle los procesos que estén alterados en estos síndromes.

8. COMENTARIO FINAL

Existen al menos cuatro diferentes etapas en las que las regiones corticales se desarrollan: 1) especificación del destino neuronal, determinado tanto por los linajes celulares como por las interacciones epigénicas que determinan su diferenciación progresiva, 2) determinación de las conexiones intracorticales, resultado de la expansión o contracción de los árboles dendríticos y por la formación y eliminación de sinapsis, 3) especificación de las aferentes corticales y, 4) especificación de las eferentes corticales, ambas organizadas por selección o eliminación de conexiones difusas.

En los últimos 25 años, diversos estudios muestran que los patrones temporales específicos de la actividad neural tanto química como eléctrica son necesarios durante el desarrollo para el establecimiento de los patrones de conectividad típicos y funcionales, no sólo en la corteza sino también en estructuras como el tectum optico y el tálamo (Read-Montague et al, 1991; Dubin et al, 1988; Meyer, 1982; Clark et al, 1988). Estos experimentos demuestran la posibilidad de que exista un mecanismo general, basado en la actividad eléctrica y química durante el desarrollo, que guíe el establecimiento de conexiones neurales. De esta forma ha sido posible llegar a 2 generalizaciones: 1) Los axones que disparan al mismo ritmo terminan en espacios comunes y los axones con descarga diferente terminan

en dominios espaciales diferentes. 2) Algún tipo de respuesta postsináptica es necesaria para que ocurra una agregación celular adecuada (Reirter, et al, 1986; Reirter y Striker, 1988; Schmidt, 1990).

Parece ser, que los detalles exactos de la conectividad no sólo son resultado de una especificación genética (Edelman, 1987). Los datos experimentales, a los que se unen los del presente trabajo, sugieren que el desarrollo incluye señales químicas definidas finamente tanto temporal como espacialmente (Dodd y Jessell, 1988; Harris y Holt, 1990; Sretavan, 1990; Constantine-Patton et al, 1990).

Es probable, que la organización celular en el transplante pueda resultar alterada no sólo por una reacción celular individual, sino también por efectos en conjunto de las condiciones locales.

9. CONCLUSIONES.

1. El tejido cortical trasplantado a las cavidades ventriculares prolifera, crece y se diferencia, estos sucesos parecen no alterarse debido al procedimiento de transplante.

2. La organización citoarquitectónica definitiva del transplante depende parcialmente del método usado para su inyección al sitio receptor.

3. Es probable que la presencia de bandas o láminas en el transplante en bloque se deba a la conservación de alguna de las láminas formadas durante el desarrollo cortical.

4. La ausencia de láminas en los trasplantes parcialmente disociados quizá sea producto de la destrucción de las láminas formadas durante el desarrollo.

5. Existe cierta relación entre las láminas neuronales y las prolongaciones gliales en los trasplantes en bloque.

6. El estudio de estos tipos de trasplante podrían usarse como un modelo experimental de algunas alteraciones del desarrollo del SNC. que ocurren naturalmente en humanos.

BIBLIOGRAFIA

- Abeles, M., Goldstein, M.H. Functional architecture in cat primary auditory cortex. Columnar organization and organization according to depth. *J. Neurophysiol.* 33 (1970) 172
- Aguilar, R. R. Estudios morfológicos y funcionales sobre trasplantes del núcleo supraquiasmático fetal. Tesis de doctorado. Facultad de Medicina, UNAM. 1989
- Altman, J., Anderson, W.J. Experimental reorganization of the cerebellar cortex. II effects of elimination of most microneurons with prolonged X irradiation started at four days. *J. Comp. Neurol.* 149 (1973) 123
- Alvarado-Mallart, R.M., Sotelo, C. Differentiation of cerebellar anlage heterotopically transplanted to adult rat brain: a light and electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.* 212 (1982) 247
- Amaducci, L; Forno, K. I; Eng, L. F. Glial Fibrillary Acidic Protein in cytogenic lesions of the rat brain. *Neurosci Lett* 21 (1981) 27
- Andrew, A. The APUD concept: Where has it led us. *Brit. Med. Bull.* 38 (1982) 221
- Angevine, J.B., Sidman, R.L. Autoradiographic study of cell migration during histogenesis of cerebral cortex in the mouse. *Nature* 192 (1961) 766
- Angevine, J.B., Sidman, R.L. Autoradiographic study of histogenesis in the cerebral cortex of the mouse. *Anat. Rec.* 142 (1962) 210
- Baker, P.C., Schoeder, T.E. Cytoplasmic filaments and morphogenetic movement in amphibian neural tube. *Dev. Biol.* 15 (1967) 432
- Bartlett, P.F., Noble, M.D., Pruss, R.M., Raff, M.C., Rathay, S., Williams, C.A. Rat neural antigen -2 (Ran 2) a cell surface antigen in astrocytes, ependymal cells, Muller cells and leptomeninges defined by a monoclonal antibody. *Brain Res.* 204 (1981) 339

- Bernstein, J.J., Hoovler, D.W., Turtill, S. Initial growth of transplanted E11 fetal cortex and spinal cord in adult rat spinal cord. *Brain Res.* 343 (1985) 336
- Berry, M., Rogers, A.W. The migration in neuroblast in the developing cerebral cortex. *J. Anat.* 90 (1965) 691
- Bignami, A., Eng, L.F., Dahl, D., Uyeda, C.T. Localization of the Glial Fibrillary Acidic Protein in astrocytes by immunofluorescence. *Brain Res.* 43 (1972) 429
- Bignami, A.D., Dahl, D., Rueger, C. Glial Fibrillary Acidic (GFA) protein in normal neural cells and in pathological conditions. En: *Advances in cellular neurobiology*, Vol 1. 1980. S. Fedoroff y L. Hertz Eds. pp 286. Academic Press N.Y.
- Bignami, A., Dahl, D. Astrocyte specific protein and neuroglial differentiation. An immunofluorescence study with antibodies to the GFAP. *J. Comp. Neurol.* 153 (1981) 27
- Bitner, C., Benjelloun-Touimi, S., Duptyey, P. Palisading pattern of subpial astroglial processes in the adult rodent brain: relationship between the glial palisading pattern and the axonal and astroglial organization. *Dev. Brain Res.* 37 (1987) 167
- Bjorklund, A., Stenevi, U., Svendgaard, N.A. Growth of transplanted Monoaminergic neurones into the adult hippocampus along the perforant path. *Nature.* 267 (1976) 787
- Bjorklund, A., Stenevi, U. Reformation of the severed septo-hippocampal cholinergic pathway in the adult rat by transplanted septal neurones. *Cell. Tiss. Restor.* 185. (1977) 289
- Bjorklund, A., Segal, M., Stenevi, U. Function reinnervation of rat hippocampus by locus coeruleus implants. *Brain Res.* 170 (1979b) 409
- Bjorklund, A., Stenevi, U. Regeneration of monoaminergic and cholinergic neurones in the mammalian nervous system. *Physiol. Rev.* 59 (1979) 62
- Bjorklund, A., Stenevi, U. Intracerebral neural grafting: A historical perspective. En: *Neural grafting in the mammalian CNS.* A. Bjorklund y U.

Stenevi. Eds. 1985. Elsevier Science Publishers S.B.V.

- Bjorklund, H., Bignami, A. 1986. Immunological markers in astrocytes. En: Astrocytes. Vol 3. S. Fedoroff y A. Vernadakis Eds. Academic Press Inc. 1986 pp 1-19.

- Bjorklund, A., Lindvall, D., Isacson, O., Brundin, P., Victorin, K., Strecker, R.E., Clarke, D. J., Dunnett, S.B. Mechanisms of action of intracerebral neural implants: Studies on nigral and striated grafts to the lesioned striatum. TiNs. 10 (1987) 509

- Boulder Committee. Embryonic vertebrate central nervous system. Revised terminology. Anat. Rec. 166 (1970) 257

- Cameron, R.S; Rakic, P. Glial cells lineage in the cerebral cortex: a Review and synthesis. Glia 4 (1991) 124

- Caviness, V. S., Rakic, P. Mechanisms of cortical development: a view from mutations in mice. Ann. Rev. Neurol. 145 (1978) 85

- Caviness, V.S. Neocortical histogenesis in normal and reeler mice: a developmental study based on 3H thymidine autoradiography. Dev. Brain Res. 4 (1982) 293

- Caviness, V.S; Williams, R.S. Cellular patterns in developmental malformations of neocortex; neuron-glia interactions. En: The developing brain and its disorders. M. Arima, Y. Suzuki y H. Yabuchi. Eds. Karger press. N.Y. 1985 pp 43-67

- Choi, B.H., Lapman, W.L. Radial glia in the human fetal cerebrum: a combined Golgi immunofluorescence and electron microscopic study. Brain Res. 148 (1978) 295

- Choi, B.H. Radial glia of developing human fetal spinal cord: Golgi immunohistochemical and electron microscopic study. Dev. Brain. Res. 1 (1981) 249

- Choi, B.H., Kim, R.C., Lapman, L.W. Do radial glia give rise to both astrocytes and oligodendroglial cells ?. Dev. Brain. Res. 8 (1983) 119

- Chun, J.J.M., Shatz, C.J. A fibronectin like molecule is present in the

developing cat cerebral cortex and its correlated with subplate neurons. J. Comp. Biol. 106 (1988) 857

- Clark, R. M; Allard, T; Jankins, W. M; Mezernich, M. M. Receptive fields in the body surface map in adult cortex defined by temporally correlated inputs. Nature 332 (1988) 413

- Cochard, P., Paulin, D. Initial expression of neurofilaments and vimentin in the central and peripheral nervous system of the mouse embryo *in vivo*. J. Neurosci. 4 (1984) 2080

- Connor, J. R; Bernstein, J. J. Vasoactive intestinal polypeptide neurons in fetal cortical homografts to adult rat spinal cord. Brain Res. 367 (1986) 214

- Constantine-Patton, M; Cline, H. T; Debski, E. Patterned activity synaptic convergence and the NMDA receptor in developing visual pathways. Annu. Rev. Neurosci. 13 (1990) 129

- Cowan, W.M. Neuronal death as a regulative machamisms in the control of cell number in the nervous system. En: Development and aging in the nervous system. M Rockstein ed. 1973. pp 19-41 Academic press, NY.

- Cowan, W. M; Fawcett, J. W; O'Leary, D. D. M; Standfield, B. B. Regressive events in neurogenesis. Science 225 (1984) 1258

- Culican, S.M., Baumrind, L.N., Yamamoto, M., Pearlman, A.L. Cortical radial glia: identification in tissue culture and evidence for their tranformation to astrocytes. J. Neurosci. 2 (1990) 684

- Dahl, D., Bignami, A. Immunochemical and immunofluorescence studies of the Glial Fibrillary Acidic Protein invertebrates. Brain Res. 61 (1973) 279

- Das, S., Altman, J. Transplanted precursors of nerve cells: their fate in the cerebellum of young rats. Science. 173 (1971) 637

- Das, G.D. Transplantation of embryonic neural tissue in the mammalian brain. I Growth and differentiation of neuroblast from variuos regions of the embryonic brain in the cerebelum of neonate rats. Tit. J. Life Sci. 4 (1974) 93

- Das, G.D. Differentiation of dendrites in the transplanted neuroblast in the mammalian brain. *Adv. Neurol.* 12 (1975) 181
- Das, S., Hallas, B.H. Transplantation of brain tissue in the brain of adult rats. *Experientia* 34 (1978) 1304
- Das, G.D., Hallas, B.H., Das, K.G. Transplantation of brain tissue in the brain of rat. I Growth characteristics of neocortical transplants from embryos of different ages. *Am.J. Anat.* 158 (1980) 135
- Das, D., Das, G.K., Brasko, J., Aleman-Gomez, J. Neural transplants: volumetric analysis of their growth and histopathological changes. *Neurosci. Lett* 41 (1983) 73
- Das, G.D. Development of neocortical transplants. en: *Neural grafting in the mammalian CNS.* A. Bjorklund y U. Stenevi. Eds. 1985. Elsevier Science Publisher S.B.V. pp 3-13.
- Das, G.D., Ross, D.T. Neural transantation: autoradiographic analysis of histogenesis in neocortical transplants. *Int. J. Dev. Neurosci.* 4 (1986) 69
- Das, G.D. Neural transplantation: An historical perspective. *Neurosci. and Biobehav. Rev.* 14 (1990) 389
- Dood, J; Jessel, T. Axon guidance and patterning of neuronal proyections in vertebrates. *Science* 242 (1988) 692
- Dubin, M. W; Stark, L. A; Archer, S. M. A role for action potential activity in the development of neuronal connections in the kitten retinogeniculate pathway. *Science* 242 (1988) 87
- Dunett, S. B., Ryan, C. N., Levin, P. D., Reynolds, M., Bunch, S. T. Funtional consequences of embryonic neocortex-transplanted to rats with prefrontal cortex lesions. *Behav. Neurosci.* 101 (1987) 489
- Ebner, F.F., Olschowka, J.A., Jacobowitz, D. M. The development of peptide-containing neurons within neocortical transplants in adult mice. *Peptides* 5 (1984) 105
- Edelman, G.M. Surface modulation in cell recognition and cell growth. *Science* 192 (1976) 218

- Edelman, G.M. Cell Adhesion Molecules. Science 219 (1983) 450
- Edelman, G.M. Modulation of cell adhesion during induction histogenesis and perinatal development of the nervous system. Annu. Rev. Neurosci 7 (1984) 339
- Edelman, G.M. Expression of cell adhesion molecules during embryogenesis and regeneration. Exp. Cell. Res. 161 (1985) 1
- Edelman, G.M. Neural Darwinism. The theory of neuronal group selection. Basic Books Inc. N.Y. 1987. pp 73-140
- Edmunds, S.M., Parnavelas, J.G. Retzius-cajal cells: an ultrastructural study in the developing visual cortex of the rat. J. Neurocytol. 11 (1982) 427
- Eng, L.V., Vanderhaeghenn, S.J., Bignami, A., Gerstl, B. An acidic protein isolated from fibrous astrocytes. Brain Res. 28 (1971) 351
- Eng, L.V.; Reier, P.J.; Houle, J.D.; Astrocytic activation and fibrous gliosis: Glial Fibrillary Acidic Protein immunostaining of astrocytes following intraspinal cord grafting of fetal CNS tissue. En: progress in brain research vol 71 F.J. Seil; E. Herbert; y B.M: Carlson Eds. 1978 Elsevier.
- Eng, L.V., De Armond, S.J. Immunocytochemical studies of astrocytes in normal development and disease. Adv. Cell. Neurobiol. 3 (1982) 145
- Eng, L.V. Experimental models for astrocyte activation and fibrous gliosis. En: Glial-Neuronal communication in development and regeneration. H.H. Althaus y W. Seifert EDS. 1987. NATO ASI Series H. Springer-Verlag. Berlin.
- Escobar, M., Fernandez, J., Guevara-Aguilar, R., Bermudez-Rattoni, F., Fetal brain grafts induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesion. Brain Res. 478 (1989) 368
- Fedoroff, S., Houle, J.D., Kalnins, V.I. Intermediate filaments and neural cell differentiation. Int. J. Neurol. 1984.
- Fedoroff, S. Prenatal ontogenesis of astrocytes. En: Cellular neurobiology: a series, Astrocytes, development, morphology and regional specialization

of astrocytes, Vol 1. S. Fedoroff y A. Vernadakis eds. pp 35-67 Academic Press, Orlando, Flo. 1986

- Fujita, S. The matrix cell and cytotogenesis in the developing central nervous system. *J.Comp.Neurol.* 120 (1963) 37

- Fujita, S. Analisis of neuron diferentiation in the central nervous system by tritiated thymidine autoradiography. *J.Comp. Neurol.* 122 (1964) 311

- Fujita, T., Kobayashi, S., Paraneural cells in the GEP endocrine system. En: Gut hormones. S. R. Bloom (Ed) Churchill Livingstone. London. 1978 pp 414

- Freed, W.J., Morihisa, J.M., Spoor, R., Hoffer, B.J., Olson, L., Seiger, A., Wyatt, R. J. Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behavior. *Nature* 292 (1981) 351

- Gash, D., Sladek, J.R., Sladek, C.D. Functional development of grafted vasopressin neurons. *Science* 210 (1980) 1367

- Gash,D.M. Neural transplants in mammals: A historical overview. En: Neural transplants development and functions. John R. Sladek, Jr., y Don M. Gash Eds. 1984. Plenum Press, N.Y.

- Gibson, M.J., Krieger, D.T., Perlow, M.J., Davies, T., Zimmerman, E., Ferin, M., Charlton, H. Hypotalamic brain transplants reverse hypogonims in male mutant mice with gonadotropin-releasing hormone deficiency. *Transactions of the association of american physicians.* 95 (1982) 188

- Gibson, M.J., Krueger, D.T., Charlton, H.M., Zimmerman, E.A., Silverman, A.J., Perlow, M.J. Mating and pregnancy can occur in genetically hypogonadal mice with preoptic area brain grafts. *Science* 225 (1984) 949

- Gibbs, R.B., Harris, E.W., Cotman, C.W. Replacement of damaged cortical projections by homotypic transplants of entorhinal cortex. *J. Comp. Neurol.* 237 (1985) 47

- Graziadei, P.P., Kaplan, C. Regrowth of olfactory sensory axons into transplanted neural tissue. 1. Development of connections with the occipital cortex. *Brain Res.* 201 (1980) 39

- Grumet, M; Edelman, G.M. Heterotypic binding between neuronal membrane vesicles and glial cells is mediated by a specific neuron glia cell adhesion molecule J. Cell. Biol. 98 (1984) 1746
- Guilian, D., Lachman, L. B. Interleukin-1 stimulation of astroglial proliferation after brain injury. Science 228 (1985) 497
- Harrelson, A.L., Goddman, C.S. Growth cone guidance in insects: fasciclin II is a member of the immunoglobulin superfamily. Science 242 (1988) 700
- Harris, W. A; Holt, C.E. Early events in the embriogenesis of the vertebrate visual system cellular determiation and pathfinding. Ann. Rev. Neurosci. 13 (1990) 155
- Harvey, A., Lund, R.D. Transplantation of tectal tissue in rats. II Distribution of host neurons wich proyect to transplants. J. Comp. Neurol. 202 (1981) 505
- Hatten, M. E. Neuronal regulation of astroglial proliferation and diferentiation in vitro. J. Cell Biol. 100 (1985) 1353
- Hatten, M. E; Liem, R. K. H; Shelansky, M. L; Mason, C. A. Astroglia in CNS injury. Glia 4 (1991) 233
- Herrera-Marchitz, M., Stromberg, I., Olson, D., Undgertedt, V., Olson, L. Adrenal medulary implants in the dopaminergic denervated rat estriatum. II. acute behaviour as a fuction of grafted amount and location and its modulation by neuroleptics. Brain Res. 297 (1984) 53
- Hallas, B.H., Das, G.D., Das, K.G. Transplantation of brain tissue in the brain of rat. II. Growth characteristics of neocortical transplants in host of different ages. Am. J. Anat. 158 (1980) 147
- His, W. Die neuroblasten und deren entstehung im embrionalen marke. Abh. Math. Phys. Cl. Kgl. Sach. Ges. Wiss. 15 (1889) 313. En: Jacobson, M. 1978. Developmental Neurobiology, segunda edicion. Plenum Press. NY
- Hoffer, B., Seiger, A., Ljungberg, T., Olson, L. Electrophysiological and citological studies of brain homografts in the anterior chamber of the eye. Maturation of cerebellar cortex in oculo. Brain Res. 79 (1974) 165

- Hoffer, B., Olson, A., Seiger, A., Bloom, F. Formation of a functional adrenergic input to intraocular cerebellar grafts: ingrowth of inhibitory sympathetic fibers. *J. Neurobiol.* 6 (1975) 565
- Hoffer, B., Rose, G., Gerhardt, G., Stromberg, I., Olson, L. Demonstration of monoamine release from transplanted-reinnervated caudate nucleus by *in vivo* electrochemical detection. En: *Neural grafting in the mammalian CNS* EDS. A, Borklund y U, Stenevi. Elsevier, Amsterdam. pp 437- 450. 1985
- Houle, J.D., Fedoroff, S. Temporal relationship between the appearance of vimentin and neural tube development. *Dev. Brain. Res.* 9 (1983) 189
- Hubel, D.H., Wiesel, T.N. Laminar and columnar distribution of geniculocortical fibers in the macaque monkey. *J. Comp. Neurol.* 146 (1972) 421
- Hubel, D.H., Wiesel, T.N., Le Vay, S. Plasticity of ocular dominance in monkey striate cortex. *Phil. Trans. Roy. Soc. (London) Ser. B.* 278 (1977) 377
- Hubel, D.H., Livingstone, M.S. Segregation of form, color and stereopsis in primate area 18. *J. Neurosci.* 7 (1978) 3378
- Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H. Protein, avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques. *J. Histochem. Cytochem.* 29 (1981) 577
- Jacobson, M. 1978. *Developmental Neurobiology*, segunda edicion. Plenum Press. NY
- Jaeger, C.B., Lund, R.D. Efferent fibers from transplanted cerebral cortex of rats. *B. Res.* 165 (1979) 338
- Jaeger, C.B., Lund, R.D. Transplantation of embryonic occipital cortex to the brain of newborn rats. An autoradiographic study of transplant histogenesis. *Exp. Brain Res.* 40 (1980a) 265.
- Jaeger, C.B., Lund, R.D. 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 (1980b) 571

- Jaeger, C.B., Lund, R.D. Transplantation of embryonic occipital cortex to the brain of new born rats: a golgi study of mature and developing transplants. *J.Comp. Neurol.* 200 (1981) 213
- Jaeger, C.B., Lund, R.D. Influence of grafted glia cells and host mossy fibers on anomalously migrated host granulate cells surviving in cortical transplants. *Neurosci.* 7 (1982) 3069
- Janeczko, K. The proliferative response of astrocytes to injury in neonatal brain. A combined immunocytochemical and autoradiographic study. *Brain Res.* 456 (1988) 280
- Jones, E.G. Cellular components of the cerebral cortex. pp 521-553. En: *Cerebral Cortex*, Vol 1. A. Peters y E.G. Jones Eds. 1984. Plenum Press N.Y.
- Kandel, E., Schwartz, J. 1985 *Principles of Neural Science*. segunda edicion. Elsevier Science Publishers, N.Y.
- Kaplan, M.S., Hinds, J.W. Gliogenesis of astrocytes and oligodendrocytes in the neocortical gray and white matter of the adult rat: Electron microscopic analysis of light radiographs. *J. Comp. Neurol.* 193 (1980) 711
- Kershman, J. the medulloblast and medulloblastoma, a study of human embryos. *Arch. Neurol. Psychiat.* 40 (1938) 937
- Kolb, B., Tees, R. 1990. *The cerebral cortex of the rat*. Bradford Book. MIT Press. Cambridge, Londres.
- Kostovic, I., Rakic, P. Cytology and the time of origin of interstitial neurons in the white matter in infant and adult monkey telencephalon. *J. Neurocytol.* 9 (1980) 219
- Kostovic, I., Molliver, M.E. A new interpretation of the laminar development of cerebral cortex: synaptogenesis in different layers of neopallium in the human fetus. *Anat. Rec.* 178 (1974) 178
- Kromer, L.F., Bjorklund, A., Stenevi, U. Intracerebral implants a technique for studying neuronal interactions. *Science.* 204 (1979) 1117
- Kromer, L.F. Bjorklund, A., Stenevi, U. Intracerebral embryonic neural

implants in the adult rat brain. I growth and mature organization of brain stem cerebellar and hippocampal implants. *J. Comp. Neurol.* 218 (1983) 43

- Labbe, R., Firl, J.A., Mufson, E.J. Fetal brain transplants: reduction of cognitive deficits in rats with frontal cortex lesions. *Science* 221 (1981) 470

- Landry, C. F. Developmental expression of Glial Fibrillary Acidic Protein mRNA in the rat brain analyzed by in situ hybridization. *J. Neurosci. Res.* 25 (1990) 194

- Le Gros Clark, W.E. Neuronal differentiation in implanted foetal cortical tissue. *J. Neurol. Psychiatry.* 3 (1940) 263 En: Das, G. Neural transplantation: An historical perspective. *Neuroscience and biobehavioral Res.* 14 (1990) 189

- Levitt, P., Rakic, P. Immunoperoxidase localization of Glial Fibrillary Acidic Protein in radial glial cells and astrocytes of the developing Rhesus monkey brain. *J. Comp. Neurol.* 193 (1980) 815

- Levitt, P., Cooper, M.L., Rakic, P. Coexistence of neuronal and glial precursor cell in the cerebral ventricular zone of the fetal monkey: an ultrastructural immunoperoxidase analysis. *J. Neurosci.* 1 (1981) 27

- Lindsay, R. M. Reactive gliosis. En: *Astrocytes, cell biology and pathology of astrocytes vol 3* S. Fedoroff y A. Vernadakis Eds. Plenum Press 1986 NY pp 231-254. .

- Lorente de No, R. The cerebral cortex: architecture, intracortical connections and motor projections, pp 291-325. En: *Physiology of the nervous system* J.F. Fulton ed. 1938. Oxford university press. Londres.

- Lund, R.D., Hauschka, S.D. Transplanted neural tissue develops connections with host rat brain. *Science.* 193 (1976) 582

- Luine, V.N., Frankfurt, M., Rainbow, T., Biegan, A., Azmitia, E. *Brain Res.* 264 (1983) 344

- Luskin, M. B; Shatz, C. J. Studies of the earliest generated cells of the cat's visual cortex: cogeneration of subplate and marginal zones. *J. Neurosci.* 5 (1985a) 1062

- Luskin, M.B., Shatz, C.J. Neurogenesis of the cats primary visual cortex. *J. Comp. Neurol.* 242 (1985b) 611
- Marin-Padilla, M. Prenatal and early postnatal ontogenesis of the human motor cortex: a golgi study. I. The sequential development of the cortical layers. *Brain Res.* 23 (1970) 167
- Marin Padilla, M. Early prenatal ontogenesis of the cerebral cortex (neocortex) of the cat (*Felis domestica*): a golgi study I.the primordial neocortical organization. *Z.Anat. Entwickl-Gesch.*134 (1971) 117
- Marin Padilla, M. Prenatal ontogenic history of the principal neurons of the neocortex of the cat (*Felis domestica*): a golgi study. II Developmental differences and their significances. *Z. Anat. Entwickl-Gesch.* 136 (1972) 125
- Marin-Padilla, M. Dual origin of the mammalian neocortex and evolution of the cortical plate. *Anat. Embryol.* 152 (1978a) 109
- Mc Connell, S.K. Development and decision making in the mammalian cerebral cortex. *Brain Res. Rew.* 13 (1988) 1
- Meyer, R. L. Tetrodotoxin blocks the formation of ocular dominance columns in goldfish. *Science* 218 (1982) 589
- Misson, J-P., Edwards, M.A., Yamamoto, M., Caviness, V.S. Mitotic cycling of radial glial cell of the fetal murine cerebral wall: a combined autoradiographic and immunohistochemical study. *Dev. Brain Res.* 38 (1988a) 183
- Misson, J-P., Edwards, M.A., Yamamoto, M., Caviness, V.S. Identification of radial glial cells within the devolving murine central nervous system: studies based upon a new immunohistochemical marker. *Dev Brain Res.* 44 (1988b) 95
- Miyake, T; Hattori, T; Fukuda, M; Kitamura, T. Reactions of S-100 positive glia after injury of mouse cerebral cortex. *Brain Res.* 489 (1989) 31
- Mollgard, K., Lundberg, J.J., Beebe, B. K., Bjorklund, A., Stenevi, U. The intracerebrally cultured microbrain: a new tool in developmental neurobiology. *Neurosci. Lett.* 8 (1978) 295

- Mountcastle, V.B. Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *J. Neurophysiol.* 20 (1957) 408
- Mufson, E. J; Labbe, R; Stein, D. G. Morphologic features of embryonic neocortex grafts in adults rats following frontal cortical ablation. 1987
- Newgreen, D.F. Physical influences on neural crest migration in avian embryos: contact guidance and spatial restriction. *Dev. Biol.* 131 (1989) 136
- Olson, L. 1983. Intrinsic and extrinsic determinants of brain development as evidenced by grafting of fetal brain tissue. En: *Developing and regenerating vertebrate nervous system.* pp 121-150. Alan Liss. Publishers. NY.
- Olson, L., Hoffer, B. In oculo transplantation technique. En: *Neural grafting in the mammalian CNS.* A. Bjorklund y U. Stenevi, Eds. 1985 Elsevier Science Publishers, B.V.
- Pansky, B., Allend, J., Budd, C.G. Review of neuroscience. 1988. McMillan Publishing Co. N.Y. PP 40-49.
- Patel, U., Bernstein, J.J. Growth, differentiation and viability of fetal rat cortical and spinal cord implants into adult rat spinal cord. 9 (1983) 303
- Peters, A., Feldman, M. The cortical plate and molecular layer of the late rat fetus. *Z. Anat. Entwickl-Gesch.* 141 (1973) 3
- Peters, A. 1984 The visual cortex of the rat. En: *Cerebral Cortex. Vol 3.* Alan Peters y Edward G. Jones Eds. Plenum press. 1984. pp 19-48.
- Pinto Lord, M.C., Evrard, P., Caviness, V.S. Obstructed neuronal migration along radial glial fibers in the neocortex of the reeler mouse: an golgi EM analysis. *Dev. Brain. Res.* 4 (1982) 379
- Ramon y Cajal, S. 1909-1911 *Histologie du systeme nerveux dell'homme et des vertebres*, 2 vols. L. Azoulay (Trad) Reimpresion del Instituto Ramon y Cajal del C.S.I.C. Madrid, 1952-1955.
- Ramon y Cajal, S. Sobre un nuevo proceder de impregnacion de la neuroglia. *Trab. Lab. Invest. Biol. (Madrid)* 11 (1913) 219

- Rakic, P. Guidance of neurons migrating to the fetal monkey neocortex. *Brain Res.* 33 (1971a) 471
- Rakic, P. Neuron glia relationship during granule cell migration in developing cerebellar cortex: a golgi and electron microscopic study in the *Macacus rhesus*. *J.Comp.Neurol.* 141 (1971b) 283
- Rakic, P. Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. *J. Comp. Neurol.* 145 (1972) 61
- Rakic, P., Stensaas, L.J., Sayre, E.P., Sidman, R.L. Computer aid three dimensional reconstruction and quantitative analysis of cells from serial electron microscopic montages of fetal monkey brain. *Nature* 250 (1974a) 31
- Rakic, P. Neurons in the Rhesus monkey visual cortex: systematic relation between time of origin and eventual disposition. *Science* 183 (1974b) 425
- Rakic, P. Neuronal migration and contact guidance in the primate telencephalon. *Postgrad. Med.J.* 54 (1978) 25
- Rakic, P. Neuronal-glial interaction during brain development. *TINS* 4 (1981) 184
- Rakic, P. (1981) Developmental events leading to laminar and areal organization of the neocortex. En: *The organization of the cerebral cortex*. Schmitt, F.O., Worden, F.G., Adelman, G., Dennis, S.G. Eds. Cambridge, MA. MIT. Press. pp 7
- Rakic, P., Goldman-Rakic, P. Development and modifiability of the cerebral cortex. *Neurosciences res. prog.* volumen 20 4 (1982) 439
- Rakic, P. Contact regulation of neuronal migration En: G.M.Edelman., J.P.Thiery Eds. *The cell in contact: adhesions and junctions as morphogenetic determinants*. Neurosciences research Foundation. Cambridge. 1985. pp 67-91
- Rakic, P. Specification of cerebral cortical areas. *Science*, 241 (1988) 170
- Read-Montague, P; Gally, J. A; Edelman; G, M. Spatial signaling in the

development and function of neural connections. *Cerebral Cortex* 1 (1991) 199

- Rier, P. J; Stensaas, L. J; Guth, J; The astrocytic scars as an impediment to regeneration in the CNS. En: *Cellular neurobiology: a series, Astrocytes, development, morphology and regional specialization of astrocytes*, Vol 1. S. Fedoroff y A. Vernadakis eds. pp 35-67 Academic press, Orlando. 1986

- Reiter, H. O; Waitzman, D. M; Stryker, M. P. Cortical activity blockade prevents ocular dominance plasticity in the kitten visual cortex. *Exp. Brain Res.* 65 (1986) 182

- Reiter, H. O; Stryker, M. P. Neuronal plasticity without postsynaptic action potentials: less active inputs become dominant when kitten visual cortical cells are pharmacologically inhibited. *Proc: Natl. Acad. Sci. USA.* 85 (1988) 3623

- Reynolds, M.L., Mollgard, K. The distribution of plasma proteins in the neocortex and early allocortex of the developing sheep brain. *Anat. Embryol.* 171 (1985) 41

- Rickmann, M., Wolff, J.R. Differentiation of preplate neurons in the pallium of the rat. *Bibliothca. Anat.* 19 (1981) 142

- Rosenstein, J. M. neocortical transplants in the mammalian brain lack a blood barrier to macromolecules. *Science* 235 (1987) 772

- Sauer, F. C. Mitosis in the Neural Tube. *J. Comp. Neurol.* 62 (1935) 377

- Schaper, A. The earliest differentiation in the central nervous system of vertebrates. *Science* 5 (1897) 430

- Schmechel, D.E., Rakic, P. A golgi study of radial glial cells in developing monkey telencephalon: morphogenesis and transformation into astrocytes. *Anat. Embryol.* 156 (1979a) 115

- Schmechel, D.E., Rakic, P. Arrested proliferation of radial glial cells during gestation in rhesus monkey. *Nature* 277 (1979b) 303

- Schmidt, R.H., Lindvall, M., Stenevi, U., Borklund, A. Functional activity of

substantia nigra grafts reinnervating the striatum: neurotransmitter metabolism in C-2 deoxy-D- glucose autoradiography. *J. Neurochem.* 38 (1982) 737

- Seiger, A., Olson, L. Quantitation of fiber growth in transplanted central monoamine neurons. *Cell Tissue Res.* 179 (1977) 285

- Shimada, M., Langman, J. Cell proliferation, migration and differentiation in the cerebral cortex of the golden hamster. *J. Comp. Neurol.* 139 (1970) 227

- Shoukimas, G.M., Hinds, J.M. The development of the cerebral cortex in embryonic mouse: an electron microscopic serial section analysis. *J. Comp. Neurol.* 179 (1978) 795

- Smart, I., Leblond, C.P. Evidence for division and transformation of neuroglia cells in the mouse brain as derived from radiography after injection of thymidine-H3. *J. Comp. Neurol.* 116 (1961) 67

- Smart, I.H.M. Three dimensional growth of the mouse isocortex. *J. Anat.* 137 (1983) 683

- Sidman, R.L., Miale, I.L., Feder, N. Cell proliferation and migration in the primitive ependymal zone: an autoradiographic study of histogenesis in the nervous system. *Exp. Neurol.* 1 (1959) 322.

- Smith, G.M.; Miller, R.H.; Silver, J. Changing role of forebrain astrocytes during development, regenerative failure and induced regeneration upon transplantation. *J. Comp. Neurol.* 251 (1986) 251

- Sretavan, D. W. Specific routing of retinal ganglion cells axons at the mammalian optic chiasm during embryonic development. *J. Neurosci.* 10 (1990) 1995

- Stenevi, U., Bjorklund, A., Kromer, L. F., Paden, C. M., Gerlach, J. L., Mc Even, B. S., Silverman, A. J. Differentiation of embryonic hypothalamic transplants cultured on the choroidal pia in brains of adult rats. *Cell Tissue Res.* 205 (1980) 217

- Stewart, G. R., Pearlman, A. L. Fibronectin like immunoreactivity in the developing cerebral cortex. *J. Neurosci.* 7 (1987) 3325

- Stewart, O. 1989. Principles of cellular, molecular and developmental neuroscience. Springer Verlag. NY:
- Sur, M., Pallas, S.L., Roe, A.W. Cross-modal plasticity in cortical development: differentiation and specification of sensory neocortex. TINS 13 (6) (1990) 227
- Takahashi, T., Misson, J-P., Caviness, V.S. Glial process elongation and branching in the developing murine neocortex: a quantitative and qualitative immunohistochemical analysis. J. Comp. Neurol. 302 (1990) 15
- Waechter, R.V., Jaensch, B. Generation times of the matrix cells during embryonic brain development: an autoradiographic study in rats. Brain Res. 46 (1972) 235
- Walsh, C., Cepko, C. Clonally related cortical cells show production in the cat's retina. Science 241 (1988) 1342
- Wallace, R.B., Das. G.D. Behavioral effects of CNS transplants in the rat. Brain Res. 243 (1982) 133
- Wiegand. R., Gash, L. Organization and efferent connections of transplanted suprachiasmatic nuclei. J. Comp. Neurol. 267 (1988) 562
- Wuerthele, S.M. Effect of dopamine agonist and antagonist on the electrical activity of substantia nigra neurons transplanted into the lateral ventricle of the rat. Exp. Brain Res. 44 (1981) 1
- Zimmer, J. Development of the hippocampus and Fascia Dentata: Morphological and histochemical aspects. Prog. Brain. Res. 48 (1978) 171
- Zilles, K. Anatomy of neocortex: Cytoarchitecture and mieloarchitecture. en: The cerebral cortex of the rat. B. Kolb., Tees, R. Eds. 1990. Bradford book. MIT press. Cambridge, Londres.