

03040  
3



---

---

---

RE-EVALUACIÓN DEL PAPEL DE LA ACTIVIDAD NEURONAL ASOCIADA CON EL USO Y DE LA DENSIDAD DE INERVACIÓN PERIFÉRICA EN LA PLASTICIDAD SENSORIOMODAL DE LA NEOCORTEZA DE LA RATA.

Helga Geovannini Acuña

228923

Centro de Neurobiología  
Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

Directores de Tesis:

Dr. Fernando Barrios Álvarez  
Investigador Titular "A", TC  
Centro de Neurobiología

Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina  
Investigador Titular "A", TC  
Instituto de Investigaciones Biomédicas

Tesis que presenta la pasante Lic. Helga Geovannini Acuña, como requisito para obtener el grado de Maestro en Ciencias (Neurobiología)

Campus Juriquilla, Querétaro. Octubre del 2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

**Universidad Nacional Autónoma de México**  
**Centro de Neurobiología**

Los Miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por Helga Geovannini Acuña, cuyo título es: "Re-evaluación del Papel de la Actividad Neuronal Asociada con el Uso y de la Densidad de Inervación Periférica en la Plasticidad Sensoriomodal de la Neocorteza de la Rata" se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

**Firma**

Presidente Dr. Manuel Salas Alvarado

\_\_\_\_\_

Secretario Dr. Fernando Alejandro Barrios Álvarez

\_\_\_\_\_

Vocal Dra. Ana Brigida Clorinda Arias Álvarez

\_\_\_\_\_

Suplente Dra. Ma. Magdalena Giordano Noyola

\_\_\_\_\_

Suplente Dr. Miguel Condés Lara

\_\_\_\_\_

Aprobado por el Comité Académico

Dr. Raúl Gerardo Paredes

\_\_\_\_\_  
Coordinador del Programa

## RESUMEN

La plasticidad es la capacidad del sistema nervioso para modificar constantemente su estructura y función, que permite generar conductas adaptativas en respuesta a estímulos externos y/o internos al organismo. Aún cuando la plasticidad juega un papel importante, no existe una teoría general que integre los factores e interacciones que la regulan. No obstante, se ha propuesto que la actividad neuronal asociada con el uso de los órganos sensoriales promueve las modificaciones plásticas de la estructura y función del sistema nervioso, y que cambios en los órganos sensoriales periféricos conducen a modificaciones plásticas a nivel central. Sin embargo, la evidencia reciente desfavorece ambas posturas.

En el presente se estudio re-evalúa el papel de la actividad neuronal y de la inervación periférica como posibles factores promotores de la plasticidad en la corteza somatosensorial primaria (S1) de ratas enucleadas bilateralmente. Los resultados muestran que tanto la actividad de la enzima citocromo oxidasa como la captura de  $^3\text{H}$  2-desoxiglucosa, ambos índices de actividad neuronal asociada con el uso de órganos sensoriales, son similares en los animales control y enucleados, a pesar de las modificaciones anatómicas que ocurren en S1 de los animales ciegos. Experimentos adicionales mostraron además que la privación de la función visual no conduce a cambios plásticos en la corteza somatosensorial, y que las modificaciones plásticas en animales adultos enucleados al nacimiento y con somestesia hemifacial son similares a las de animales enucleados neonatalmente. Asimismo, la enucleación bilateral tardía no conduce a modificaciones plásticas en S1. Los estudios conductuales tampoco mostraron un incremento en las variables de movimiento consideradas como índices de exploración en los animales enucleados con respecto a sus testigos. Por otro lado, la densidad de inervación periférica fue equivalente en animales control y enucleados, a juzgar por el número de fibras del nervio infraorbitario, y de mecanorreceptores perifoliculares. Estos resultados sugieren, en conjunto, que la participación de la actividad neuronal asociada con uso de órganos sensoriales y de la densidad de inervación periférica, tienen un papel limitado como factores promotores de los cambios plásticos en animales enucleados al nacimiento.

## SUMMARY

The nervous system displays an impressive capacity to change its structure and function in response to inner and outer environmental shifts. This property is termed plasticity. Despite the importance of plasticity for neuronal structure and functioning, no unified theory integrating factors and ongoing interactions at different levels of organization exists. Despite this fact, it has been long held that use-dependent neuronal activity and peripheral innervation density are two very important factors promoting plasticity. Recent evidence suggests otherwise.

In the present work we re-evaluated the role of both elements as plasticity promoting factors. Our results showed no differences in somatosensory cortex (S1) metabolic activity, as measured with cytochrome oxidase activity and  $^3\text{H}$  2-deoxyglucose uptake, between control and bilateral enucleated rats. Deprivation of vision did not induce obvious S1 plastic changes. S1 changes in simultaneous visual and hemifacial somesthetic deprived animals were similar to the ones in neonatal enucleated animals. Late enucleation did not lead to plastic changes in S1. Likewise, no differences were detected in motor activity to suggest increased exploratory behavior in enucleated animals. Finally, infraorbital nerve fiber number and Merkel cell density were both found similar between animal groups. Together, our findings tend to rule out the participation of use-dependent neural activity and sensory periphery innervation density as prime factors promoting cortical plasticity in enucleated animals. These results also suggest that there is a critical period for the S1 changes to occur in developing blind animals.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado en las instalaciones de cuatro laboratorios del Centro de Neurobiología, *Campus* Juriquilla de la Universidad Nacional Autónoma de México, por lo cual se agradece a la Dra. Sofia Díaz, al Dr. Fernando Barrios, al Dr. Raúl Paredes y a la Dra. Magdalena Giordano, investigadores titulares de los laboratorios, así como a su equipo de trabajo. Asimismo, la colaboración de muchas personas fue de gran ayuda para el término de esta tesis entre las que se encuentran las compañeras de laboratorio Ana Cecilia Santiago, Sandra Robles, Rosa María Piña, Tonantzin Pineda, Ivette Medina, Araceli Sánchez, Norma Sánchez y Eileen Uribe Querol. Además colaboraron Rafael Favila, Lourdes Ayala, Leopoldo González, Verónica Rodríguez, Víctor Pérez, Francisco Javier Camacho, María Lourdes Palma, Adriana Aguirre, Dr. Jorge Larriva, Patricia Villalobos y Alberto Soria. También quiero agradecer a los profesores de las asignaturas de la maestría, a los sinodales y en particular a los doctores que formaron parte de mi comité tutorial: Magdalena Giordano, Fernando Barrios y Gabriel Gutiérrez Ospina.

Los recursos e infraestructura que apoyaron el desarrollo del proyecto fueron proporcionados por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Proyectos No. J28035N y No. 26293M) y Fondo Ricardo J. Zevada. Además como estudiante de la maestría conté con los recursos de las becas de posgrado del CONACYT, DGEP, DGAPA (IN-108399) y de la Fundación Telmex.

## ÍNDICE

	Pag.
Resumen	iii
<i>Summary</i>	iv
Agradecimientos	v
Índice	vi
Índice de figuras y tablas	viii
Introducción	1
Antecedentes	3
Plasticidad sensoriomodal	3
Posibles factores que participan en la plasticidad cerebral	3
Plasticidad sensoriomodal: Un proceso que permite estudiar los mecanismos de plasticidad cerebral	7
La corteza somatosensorial primaria: Un modelo que permite estudiar los mecanismos de plasticidad cerebral.	10
Planteamiento del Problema	11
Hipótesis	11
Objetivos	11
Materiales y Métodos	13
Animales	13
Histoquímica para el complejo enzimático Citocromo Oxidasa (CO)	15
Captura de <sup>3</sup> H-2 Desoxiglucosa (2DG)	15
Análisis densitométrico	16
Marcaje de células de Merkel con quinacrina	17
Número de fibras en la rama infraorbitaria del nervio trigémino	18
Actividad motriz	18
Resultados	20
Área de los barriles	20
Actividad de la enzima citocromo oxidasa	22

Niveles de captura de 2DG	24
Células de Merkel	25
Número de fibras en la rama infraorbitaria del nervio trigémino	27
Actividad motriz	28
Discusión	31
Conclusiones	35
Referencias	36

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Pag.
Figura 1. Representación de las cortezas somatosensorial (S1), auditiva (A1) y visual (V1) del cerebro de una rata control (A) y enucleada (B).	1
Figura 2. Esquema que ilustra las posibles modificaciones del tamaño de las representaciones centrales de las vibrisas al variar la densidad de inervación periférica.	2
Tabla 1. Parámetros de actividad motriz considerados en este estudio.	19
Figura 3. Reconstrucción bidimensional del PMBSF en S1 de ratas pertenecientes a distintos grupos experimentales.	21
Tabla 2. Área de la zona de barriles PMBSF en S1 en ratas enucleadas y control bajo distintas condiciones experimentales, en edades de 7 días y 8 semanas.	21
Figura 4. Fotomontaje del mapa somatosensorial a partir de cortes tangenciales teñidos para la enzima citocromo oxidasa en ratas control y enucleadas de 10 días y 8 semanas de edad.	23
Tabla 3. Valores promedio relativos de densidad óptica de la tinción para la enzima citocromo oxidasa, en ratas control y enucleadas neonatalmente.	23
Figura 5. Reconstrucción tridimensional a partir de secciones tangenciales de cerebro, que ilustra el patrón general de captura de 2DG en animales control (A) y enucleados (B) de 8 semanas de edad.	24
Tabla 4. Valores relativos de densidad óptica de captura de 2DG en animales adultos enucleados y control.	25
Figura 6. Fotomicrografía que muestra células de Merkel en el folículo piloso facial (F) teñidas con quinacrina.	26
Tabla 5. Número, área y densidad de células de Merkel en ratas control y enucleadas, de 10 días y 8 semanas de edad.	26

Figura 7. Fotomicrografía del corte transversal del nervio infraorbitario de rata de 8 semanas de edad; la barra representa 10 $\mu\text{m}$ .	27
Tabla 6. Área transversal del nervio infraorbitario y número de fibras del mismo en ratas adultas enucleadas y control con 8 semanas de edad.	27
Figura 8. Porcentaje de diferencia en los patrones de actividad motriz en ratas enucleadas de 10 días con respecto a sus contrapartes control.	29
Figura 9. Porcentaje de diferencia en los patrones de actividad motriz en ratas enucleadas de 8 semanas con respecto a sus contrapartes control.	30

## INTRODUCCIÓN

La pérdida de un órgano de los sentidos durante etapas tempranas del desarrollo conduce a cambios plásticos en la estructura y función de la corteza cerebral. Por ejemplo, la pérdida neonatal de la vista resulta en una atrofia de la corteza visual primaria, y una expansión de las cortezas somatosensorial (S1) y auditiva primarias (A1) (Bronchti et al., 1992; Zheng y Purves, 1995; Toldi et al., 1996) (Figura 1). Se ha propuesto que esta expansión es el resultado de un aumento en la actividad neuronal relacionada con el uso sensorial incrementado de los órganos sensoriales intactos (Rauschecker et al., 1992; Zheng y Purves, 1995).

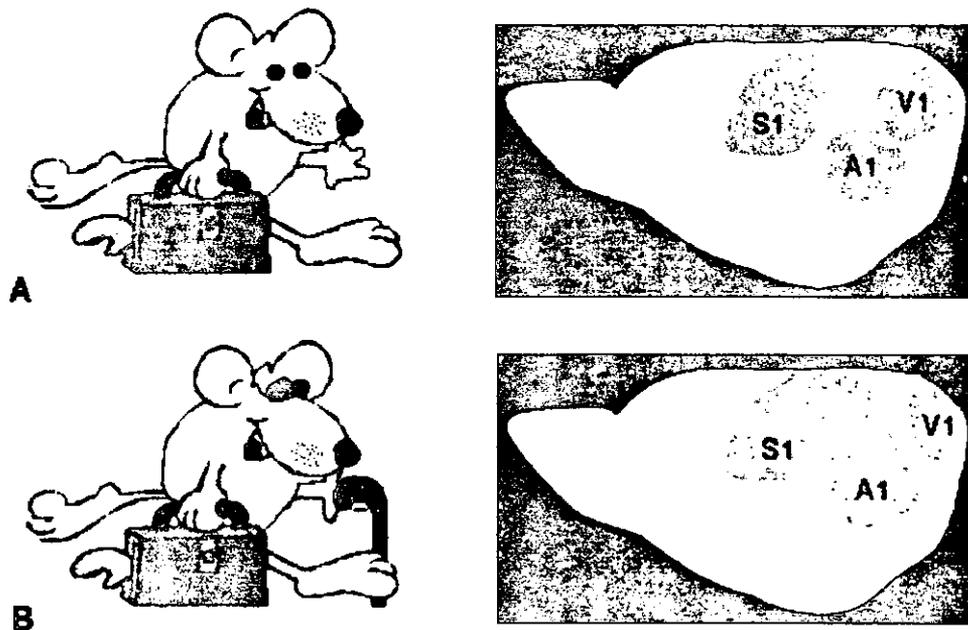


Figura 1. Representación de las cortezas somatosensorial (S1), auditiva (A1) y visual (V1) del cerebro de una rata control (A) y enucleada (B). Nótese las diferencias en el tamaño de S1 y A1 entre los grupos de animales.

No obstante la aceptación de esta idea, evidencias recientes sugieren que la expansión de S1 y A1 en animales enucleados durante el desarrollo temprano es, en gran medida, independiente de la actividad neuronal relacionada con el uso de los órganos sensoriales

intactos (Woosley y Wann, 1976; Killackey y Dawson, 1989; Gutiérrez-Ospina et al., 1998; Crowley y Katz, 2000). Por ejemplo, la amputación *in utero* de la pata anterior conduce a la expansión de las representaciones de la mandíbula y de la pata posterior en ratas recién nacidas, mucho antes de que se pueda argumentar el uso diferencial o aumentado de las extremidades. Asimismo, la cauterización neonatal de vibrisas resulta en una expansión de las representaciones de la vibrisas vecinas a expensas de la representación de aquellas lesionadas (Killackey y Belford, 1979). Ésto también sucede días antes de que las ratas muestren actividad voluntaria de las vibrisas (Simons y Land, 1987). Si bien los cambios plásticos descritos ocurren en S1, y no entre las áreas sensoriales primarias como sucede en los animales ciegos, las similitudes de los cambios plásticos observados hacen pensar que pudieran tener mecanismos comunes.

Por otro lado, se ha propuesto que el tamaño de las representaciones corporales en las cortezas primarias depende, en buena parte, de la densidad de inervación periférica asociada a los órganos sensoriales o receptores ubicados en ellos (Van der Loos y Dörfl, 1978; Rice 1985) (Figura 2). De esta manera, uno podría suponer que en los animales enucleados la expansión de S1 y A1 responde a cambios en la densidad de inervación periférica.

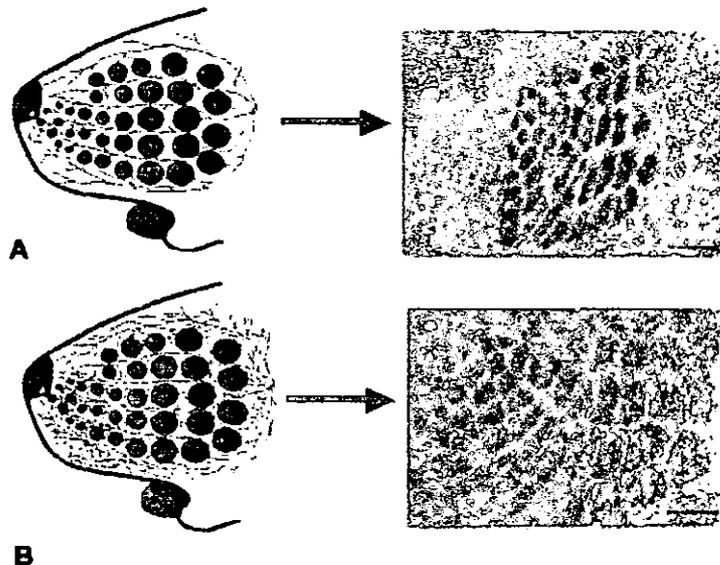


Figura 2. Esquema que ilustra las posibles modificaciones del tamaño de las representaciones centrales de las vibrisas de ratón al variar la densidad de inervación periférica. La barra representa 500 µm. Nótese que la mayor densidad nerviosa se asocia con una representación cortical incrementada tras comparar la condición normal (A) con la condición hipotética de un animal enucleado (B).

Con estos antecedentes en mente, el presente trabajo re-evalúa el posible papel de la actividad neuronal asociada con el uso y la inervación periférica, como factores promotores de la plasticidad cortical sensoriomodal en animales enucleados al nacimiento.

## **ANTECEDENTES**

### **Plasticidad Cerebral**

La supervivencia y el éxito reproductivo de las distintas especies de mamíferos dependen de la capacidad de los individuos para adaptarse a las condiciones cambiantes de sus cuerpos y del medio ambiente en el que habitan. Para que esta adaptación sea útil evolutivamente, se requiere de un alto grado de versatilidad que permita a los individuos desarrollar alternativas de estados fisiológicos, de características anatómicas y de respuestas conductuales. La capacidad para poder modificar todos estos parámetros constantemente ante cambios del ambiente interno y externo se conoce como plasticidad. Esta constituye una propiedad general de los sistemas biológicos, y juega un papel central en el proceso de adaptación.

La plasticidad estructural y funcional en los organismos pluricelulares se observa en todos los órganos y sistemas que los constituyen. No obstante, es en el sistema nervioso en donde la plasticidad ha alcanzado un grado exquisito de sofisticación. Ésto no es de sorprender, pues a través de él los organismos establecen el mayor grado de interacción e intercambio de información con los medios externo e interno. Además, debe recordarse que el sistema nervioso es el asiento de emociones, conductas, memorias y aprendizajes, todos ellos constantemente ajustados con referencia a las experiencias, y adaptados a las condiciones que los circundan. Dichas modificaciones no serían posibles en ausencia de plasticidad.

### **Posibles factores que participan en la plasticidad cerebral**

Uno de los sucesos reportados frecuentemente como parte de los cambios plásticos es la modificación estructural de las neuronas y células gliales. Cambios en la forma, tamaño y volumen del cuerpo celular, en el número de dendritas de distinto orden, en el número de botones sinápticos y colaterales axónicas parecen suceder durante dichos fenómenos. En

Con estos antecedentes en mente, el presente trabajo re-evalúa el posible papel de la actividad neuronal asociada con el uso y la inervación periférica, como factores promotores de la plasticidad cortical sensoriomodal en animales enucleados al nacimiento.

## ANTECEDENTES

### **Plasticidad Cerebral**

La supervivencia y el éxito reproductivo de las distintas especies de mamíferos dependen de la capacidad de los individuos para adaptarse a las condiciones cambiantes de sus cuerpos y del medio ambiente en el que habitan. Para que esta adaptación sea útil evolutivamente, se requiere de un alto grado de versatilidad que permita a los individuos desarrollar alternativas de estados fisiológicos, de características anatómicas y de respuestas conductuales. La capacidad para poder modificar todos estos parámetros constantemente ante cambios del ambiente interno y externo se conoce como plasticidad. Esta constituye una propiedad general de los sistemas biológicos, y juega un papel central en el proceso de adaptación.

La plasticidad estructural y funcional en los organismos pluricelulares se observa en todos los órganos y sistemas que los constituyen. No obstante, es en el sistema nervioso en donde la plasticidad ha alcanzado un grado exquisito de sofisticación. Ésto no es de sorprender, pues a través de él los organismos establecen el mayor grado de interacción e intercambio de información con los medios externo e interno. Además, debe recordarse que el sistema nervioso es el asiento de emociones, conductas, memorias y aprendizajes, todos ellos constantemente ajustados con referencia a las experiencias, y adaptados a las condiciones que los circundan. Dichas modificaciones no serían posibles en ausencia de plasticidad.

### **Posibles factores que participan en la plasticidad cerebral**

Uno de los sucesos reportados frecuentemente como parte de los cambios plásticos es la modificación estructural de las neuronas y células gliales. Cambios en la forma, tamaño y volumen del cuerpo celular, en el número de dendritas de distinto orden, en el número de botones sinápticos y colaterales axónicas parecen suceder durante dichos fenómenos. En

términos generales, estos cambios pueden resultar en la hipertrofia, hipotrofia o atrofia celulares. Es importante destacar, sin embargo, que los cambios que se observan en los distintos compartimentos celulares (i.e., somático, axónico y/o dendrítico) pueden no estar correlacionados, y proceder independientemente el uno del otro. Es decir, un aumento en la longitud del axón puede estar asociado a una disminución del número de sus colaterales, e incluso, del número de sinapsis que establece (Jensen y Killackey, 1987 a, b). Asimismo, incrementos significativos en las arborizaciones dendríticas pueden asociarse con la disminución de las espinas dendríticas (Kolb 1999). El significado de estos cambios es por ello poco claro y difícil de interpretar. Como es de esperar, las modificaciones de la morfología neuronal y glial durante eventos plásticos responden, por un lado, a reacomodos del citoesqueleto, y por otro, a la expresión de proteínas que promueven el crecimiento de los procesos celulares y la formación, eliminación y consolidación sinápticas.

Otro factor estructural importante durante los procesos de plasticidad lo constituye el número de células disponibles y/o participantes en el evento plástico. En ocasiones, y dependiendo de la edad y el modelo utilizado, las células pueden morir o sobrevivir dificultando o facilitando, respectivamente y de manera general, las probabilidades de generar plasticidad (Williams y Herrup, 1988). Así, algunos modelos experimentales de plasticidad inducen la expresión de genes y productos asociados a la apoptosis o a la inhibición de la misma.

Los cambios estructurales arriba referidos parecen ser inducidos por la presencia y/o ausencia de factores facilitadores, moduladores, promotores o inhibidores. Entre las moléculas capaces de influir la progresión de los eventos plásticos estructurales destacan las hormonas, los neurotransmisores, neuromoduladores, factores de crecimiento de origen nervioso y no nervioso, moléculas de adhesión membranales y glucoproteínas de la matriz extracelular, entre otras (Nedivi, 1999). Si bien existe evidencia experimental que sugiere la participación de estos factores en los eventos plásticos, cabe mencionar que no se observa consistencia en los efectos de moléculas específicas sobre los distintos grupos de neuronas. Es decir, algunas veces la misma molécula puede tener acciones antagónicas, mediadas por el mismo o diferente subtipo de receptor, en diferentes poblaciones y compartimentos celulares (McAllister et

al., 1999). Por otro lado, se desconocen las formas en que los distintos factores interaccionan durante los fenómenos plásticos, debido a que la mayor parte de los estudios evalúan los efectos del aumento o disminución de la disponibilidad de uno de ellos sobre la progresión de la plasticidad, dejando de lado posibles cambios asociados a otros factores que también participan. Definir este último punto es fundamental pues se ha documentado en algunos modelos experimentales, que para la adecuada progresión de la plasticidad se requiere de la expresión de varios factores en un marco espacio-temporal estricto. Así, no parecen existir “balas mágicas”, si bien el principio general de que existen factores que afectan la morfología celular durante fenómenos plásticos se cumple en todos los casos reportados.

Los cambios estructurales y moleculares arriba descritos ocurren paralelamente a modificaciones tanto de las propiedades biofísicas de las neuronas y células gliales individuales, como de las propiedades fisiológicas de los ensambles de neuronas y glia en los circuitos. Si estos cambios en el comportamiento fisiológico celular individual o en conjunto ocurren a través de mecanismos comunes o independientes de aquellos que inducen las modificaciones estructurales es aún desconocido. No obstante estas limitantes, el consenso propone que la activación o “desenmascaramiento” de sinapsis silentes (Feldman et al., 1999), la facilitación y/o depresión sinápticas, la modificación de la eficacia sináptica, la disminución del tono inhibitorio GABAérgico, el aumento del tono excitatorio glutamatérgico, cambios en la expresión de canales y corrientes iónicas, y el reclutamiento de fibras y terminales nerviosas son elementos fisiológicos que se observan en diferentes modelos de plasticidad (Nedivi, 1999; Yuste y Sur, 1999).

Con base en observaciones hechas en animales privados de experiencias sensoriales específicas, o bien sometidos a “sobre estimulación” sensorial, se ha pensado que la experiencia sensorial de los organismos juega un papel primordial como factor promotor de la plasticidad en el sistema nervioso (Diamond et al., 1964; Gandelman, 1992; Kolb, 1995; Salas et al., 1974; Simons y Land, 1987; aunque ver Crowley y Katz, 2000). Las observaciones obtenidas en animales expuestos a ambientes enriquecidos o privados de experiencias sensoriales son, sin embargo, de difícil interpretación. Por ejemplo, si bien se acepta que el “enriquecimiento sensorial” promueve el crecimiento neuronal y glial, así como la elaboración

de conexiones entre las neuronas, existen trabajos que muestran que este efecto dista de ser universal entre las poblaciones neuronales y los distintos compartimentos celulares (revisado en Bedi, 1988). Por otro lado, los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a los cambios relacionados con el enriquecimiento sensorial han sido incompletamente descritos, y la validez y aplicabilidad de los principios deducidos a partir de estos experimentos a otros modelos de plasticidad requieren ser evaluados. Tampoco se ha evaluado adecuadamente en estos modelos la participación de los procesos de habituación y atención, ambos moduladores directos de la experiencia y percepción sensoriales (Rauschecker, 1995).

Finalmente, y en estrecha relación con la concepción precedente, en diversos estudios de plasticidad se han establecido correlatos neurofisiológicos y conductuales relativamente claros, lo que ha llevado a suponer que existe una interacción entre los cambios del comportamiento y las modificaciones de la estructura y función en el sistema nervioso durante los eventos plásticos (Kaas et al., 1983). La concepción dominante de esta interacción es la que afirma que los cambios conductuales son los responsables de inducir las modificaciones del substrato neurofisiológico (Rauschecker, 1995; Zheng y Purves, 1995). Esta visión lamarckiana unidireccional de la plasticidad cerebral ha llevado a suponer que el grado de uso, y por tanto el aumento en la experiencia, conduce a la hipertrofia de los elementos neuronales involucrados en el procesamiento de la información correspondiente. Es probable, sin embargo, que las modificaciones de las conductas y de los substratos neurofisiológicos resulten de una interacción bi-direccional. De cualquier manera, e independientemente de la postura que uno apoye, los mecanismos que son responsables de esta interacción son aún poco claros.

En resumen, la mayor parte de la evidencia disponible parece sugerir que, durante los fenómenos plásticos, ocurren cambios estructurales y funcionales de las células nerviosas inducidos por modificaciones en la producción y disponibilidad de moléculas solubles y no solubles en marcos espacio-temporales restringidos. Dichos cambios, se piensa, son promovidos por las modificaciones conductuales y senso-perceptuales asociadas con el uso de las poblaciones neuronales involucradas durante el fenómeno plástico.

Si bien durante mucho tiempo se ha reconocido la importancia de la plasticidad para la estructura y función cerebrales, sólo hasta tiempos recientes los elementos y mecanismos que la subyacen a distintos niveles de organización empiezan a ser reconocidos (Kolb, 1999). Asimismo, no existe aún una teoría general de plasticidad que integre la información obtenida en los distintos niveles de organización, y que defina el tipo y la forma de las interacciones entre dichos niveles y los factores que participan. Esto se debe, quizás, a nuestra falta de conocimiento, dogmatismo, a las dificultades asociadas con las aproximaciones experimentales al problema, a la diversidad de los modelos empleados e interpretaciones de los resultados obtenidos en ellos, y a la falta de sistematización en la exploración de los modelos en distintos niveles de organización. Por otro lado, en muchas ocasiones se resaltan los aspectos particulares, en lugar de tratar de identificar los principios comunes que gobiernan los fenómenos plásticos en los diferentes modelos utilizados. Esto hace que la integración del “gran esquema” sea difícil.

Con base en lo anterior, el interés general en nuestro laboratorio es el de construir con el tiempo, una teoría general sobre la plasticidad cerebral, mediante la caracterización sistemática de los factores que participan en ella, y de las interacciones que se establecen entre estos factores en distintos niveles de organización.

### **Plasticidad sensorimodal: Un proceso que permite estudiar los mecanismos de plasticidad cerebral**

En el presente trabajo se plantea el uso de un proceso conocido como plasticidad sensorimodal, con el objetivo de iniciar la exploración de las bases neurobiológicas de la plasticidad cerebral. Este tipo de plasticidad cerebral se presenta en individuos que han perdido una o más modalidades sensoriales en un momento dado de su vida. En estos sujetos, las áreas del cerebro destinadas a procesar información relacionada con el órgano sensorial perdido disminuyen su representación funcional y anatómica, mientras que aquellas responsables de procesar información proveniente de los canales sensoriales intactos se expanden (Ver Figura 1, pag. 1). Estos cambios del substrato neurobiológico se acompañan de modificaciones de la conducta cuyo objetivo es, en apariencia, el de compensar por la función sensorial perdida. Debido a que los cambios que se observan durante los fenómenos de

plasticidad sensoriomodal son de gran escala pues involucran a grandes áreas del cerebro, forman un modelo que facilitará la identificación y caracterización de factores e interacciones, en y entre los distintos niveles de organización, que subyacen a los cambios plásticos en el sistema nervioso.

Las consecuencias conductuales de la plasticidad sensoriomodal han sido extensamente estudiadas en gatos, roedores y humanos con ceguera congénita o adquirida en el curso de la vida (revisado en Rauschecker, 1995). Por ejemplo, los gatos ciegos muestran una mejoría en su habilidad para localizar sonidos en el espacio, al ser comparados con animales control (Figura 3). De manera similar, reportes previos sugieren que los roedores ciegos aumentan el uso de sus órganos táctiles para conducir su navegación en pruebas de laberinto (Toldi et al., 1996).

Por otro lado, estudios anatómicos y electrofisiológicos en modelos animales, así como de resonancia magnética y PET en humanos, han mostrado que en los sujetos ciegos se expanden las cortezas somatosensores y auditiva primarias a expensas de la corteza visual primaria (Rauschecker, 1999; Pascual-Leone et al., 1999). Cambios semejantes en las proporciones relativas de las neuronas que procesan información relacionada con cada modalidad sensorial se han observado en algunas cortezas de asociación de animales ciegos (Rauschecker, 1995). De hecho, neuronas que normalmente mostrarían respuestas a estímulos visuales, responden a estímulos táctiles o auditivos como resultado de los procesos de plasticidad sensoriomodal. Se ha propuesto así, que los cambios conductuales y anatomo-fisiológicos que se observan asociados a la plasticidad sensoriomodal tienen ligas causales, si bien la dirección de dicha relación causal no se ha establecido con certeza.

La mayor parte de los estudios realizados hasta el momento relacionados con plasticidad sensoriomodal han sido diseñados para evidenciar los cambios conductuales y anatomo-fisiológicos de gran escala. No existe, hasta donde sabemos, ningún estudio que trate de identificar los factores que los subyacen. Se ha sugerido, que el aumento en el uso de las vías sensoriales intactas promueve la expansión de S1 y A1, tal y como sucede durante la hipertrofia muscular que resulta del ejercicio. El aumento en el tamaño de las vibrisas faciales

en gatos y roedores (Rauschecker et al., 1992), y el incremento en la densidad vascular (Zheng y Purves, 1995) en las regiones expandidas se han utilizado como argumentos a favor de esta idea. No obstante, estudios recientes sugieren que los cambios en las dimensiones relativas de las áreas cerebrales ocurren de manera independiente de los niveles de actividad relacionada con el uso (Killackey y Dawson, 1989; Crowley y Katz, 2000; Silver y Stryker, 2000).

Diversos son los mecanismos que se pueden postular para explicar la expansión de S1 y A1 en individuos ciegos. Se considera que ante la falta de información sobre los factores e interacciones que participan en la plasticidad sensoriomodal, cualquier pronunciamiento al respecto sería una débil especulación (ver discusión). Es por ello que se decidió iniciar la evaluación sistemática de posibles factores que participen como reguladores de este proceso. En esta primera fase, y dada la controversia sobre el papel de la actividad asociada al uso como factor promotor de la plasticidad cerebral, re-analizamos el papel de ésta en la plasticidad sensoriomodal.

Por otro lado, uno de los factores que determina el tamaño relativo de las áreas sensoriales primarias en el cerebro es la densidad de inervación periférica (Ver Figura 2, pag. 2). Así, receptores o conjuntos de receptores sensoriales periféricos asociados con un mayor número de fibras nerviosas por unidad de área, estarían sobre-representados a lo largo del sistema nervioso. Lo contrario sería verdad para aquellos receptores asociados a una menor cantidad de fibras. De esta forma, es posible que modificaciones en la densidad de fibras que inervan a los mecanorreceptores y a las células neuroepiteliales del órgano de Corti, induzcan la expansión de S1 y A1 en sujetos ciegos. En el presente trabajo, también se evaluó esta posibilidad.

### **S1: Un modelo que permite estudiar los mecanismos de plasticidad cerebral**

La lámina IV de S1 en los roedores contiene un mapa del cuerpo constituido por unidades citoarquitectónicas denominadas barriles. Estos módulos representan colecciones discretas de mecanorreceptores distribuidos en la superficie corporal (Dawson y Killackey, 1987). Las vibrisas faciales poseen una representación cortical conocida como el subcampo de barriles postero medial (Ver Figura 2, pag. 2). Este conjunto de barriles está organizado de manera tal que refleja exactamente la distribución espacial y anatómica de las vibrisas faciales.

La representación de las vibrisas ha sido extensamente utilizada como modelo para estudiar algunos de los mecanismos responsables de controlar el desarrollo del sistema nervioso (revisado en Killackey et al., 1990). Este modelo también se ha utilizado para describir fenómenos plásticos y algunos de los factores que los promueven (revisado en Woolsey, 1990). La utilidad de S1 radica en que los barriles son fácilmente visualizados mediante técnicas sencillas de histología e histoquímica. Dada su definición anatómica, los cambios morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y moleculares asociados al desarrollo o a fenómenos plásticos pueden evaluarse con precisión. En apoyo a esto, estudios previos han mostrado que la escisión quirúrgica ocular bilateral durante el desarrollo postnatal temprano en roedores conduce a una expansión de los barriles en S1 (Bronchti et al., 1992; Rauschecker et al., 1992).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Los eventos de plasticidad en su conjunto constituyen la piedra angular de la estructura y función nerviosas. Si bien existe evidencia sobre algunos de los principios que la gobiernan, nuestra comprensión de los procesos que la explican es aún incompleta y fragmentada. La presente tesis representa el inicio de un trabajo que pretende evaluar y caracterizar sistemáticamente los posibles factores e interacciones multi-nivel que subyacen a la plasticidad cerebral. Esperamos que el resultado de esta empresa proporcione información valiosa no sólo para entender aspectos importantes del funcionamiento, estructura y evolución del cerebro, sino también información que a largo plazo ayude a diseñar terapias génicas, farmacológicas y/o físicas para promover y/o facilitar la progresión de eventos plásticos en pacientes con alteraciones del sistema nervioso.

## **HIPÓTESIS**

La actividad neuronal asociada con el uso sensorial y la densidad de inervación periférica juegan un papel menor como factores promotores de la plasticidad sensoriomodal neocortical en la rata.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Re-evaluar la participación de la actividad neuronal asociada con el uso sensorial y de la inervación periférica como inductores de la plasticidad sensoriomodal en ratas enucleadas durante el período neonatal, empleando pruebas histoquímicas, morfométricas y de conducta.

### **Objetivos específicos**

#### **a) Evaluación de la actividad neuronal**

1.1 Determinar el área correspondiente a la representación de los barriles del PMBSF en S1 de ratas control y enucleadas, neonatas y adultas, mediante el uso de técnicas de histoquímica para la detección de citocromo oxidasa y análisis de imágenes.

1.2 Evaluar los niveles de actividad de la enzima citocromo oxidasa en la representación del PMBSF en S1 de ratas control y enucleadas, neonatas y adultas, mediante el uso de técnicas de densitometría semicuantitativa.

1.3 Evaluar los niveles de captación de  $^3\text{H}$  2-desoxiglucosa en el PMBSF en S1 de ratas control y enucleadas adultas, mediante el uso de técnicas de densitometría semicuantitativa.

1.4 Evaluar el patrón de actividad motriz de los animales control y enucleados, prepúberes y adultas, utilizando técnicas de registro automatizado.

b) Evaluación de la inervación periférica

1.5 Evaluar el número de células de Merkel en la región perifolicular epidérmica de las mejillas en ratas control y enucleadas, neonatas y adultas, mediante el marcaje con quinacrina, microscopía de fluorescencia y técnicas de análisis digital de imágenes.

1.6 Evaluar el número de fibras en el nervio infraorbitario de ratas adultas control y enucleadas en cortes semifinos teñidos con azul de toluidina con ayuda de técnicas de análisis digital de imágenes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

Para la realización de los experimentos descritos en el presente trabajo se utilizaron ratas *Sprague-Dawley* macho sacrificadas a los 10 días (10DP) y a las 8 semanas de vida (8S). Después del nacimiento, todas las camadas, se ajustaron a 10 crías. Con excepción del grupo de animales sujetos a oscuridad continua, en el resto de las camadas la mitad de las crías correspondió a individuos control intactos y la otra mitad a individuos experimentalmente manipulados. Resultados previos muestran que la manipulación no afecta la ganancia de peso, ni el ritmo general de crecimiento de los animales (Observaciones no publicadas de Lajud y Gutiérrez Ospina.). Las pruebas de conducta se realizaron en animales de 45 días de edad (45DP), tiempo en el que alcanzan el grado de movilidad y el tamaño necesario para ser detectados por el equipo utilizado.

Con el objeto de evaluar indirectamente la participación de la actividad neuronal asociada al uso sensorial en la plasticidad sensoriomodal, los animales fueron distribuidos en distintos grupos experimentales, a saber:

- a) Grupos de animales control intactos sacrificados a los 10DP y 8S.
- b) Grupos de animales enucleados al nacimiento y sacrificados a los 10DP y 8S.
- c) Grupo de animales enucleados a los 7DP y sacrificados a las 8S.
- d) Grupo de animales enucleados al nacimiento, hemi-vibrisectomizados a los 7DP y sacrificados a las 8S.
- e) Grupo de animales mantenidos en oscuridad constante y sacrificados a las 8S.

Para evaluar las posibles modificaciones de los niveles de actividad neuronal a través de técnicas de marcaje metabólico, los animales se integraron a los siguientes grupos:

- a) Grupo de animales control intactos sacrificados a los 10DP y 8S, cuyos hemisferios fueron teñidos con la técnica histoquímica para la detección de la actividad de la enzima citocromo oxidasa (CO).
- b) Grupo de animales enucleados al nacimiento sacrificados a los 10DP y 8S, cuyos hemisferios fueron teñidos con la técnica histoquímica para la detección de la actividad de CO.

- c) Grupo de animales control intactos sacrificados a las 8S en los que se administró  $^3\text{H}$  2-desoxiglucosa.
- d) Grupo de animales enucleados al nacimiento sacrificados a 8S en los que se administró  $^3\text{H}$  2-desoxiglucosa.

Para analizar las posibles diferencias en los patrones de actividad motriz, los animales fueron agrupados de la siguiente forma:

- a) Grupo de animales control intactos evaluados a los 45DP y 8S.
- b) Grupo de animales enucleados al nacimiento evaluados a los 45DP y 8S.

Para determinar si los cambios plásticos corticales se acompañaban de modificaciones periféricas, los animales se dividieron en los siguientes grupos:

- a) Grupo de animales control intactos sacrificados a las 8S, utilizados para la determinación del número y densidad de las células de Merkel.
- b) Grupo de animales control intactos sacrificados a las 8S, utilizados para la determinación del número y densidad de fibras del nervio infraorbitario.
- c) Grupo de animales enucleados al nacimiento sacrificados a las 8S, utilizados para la determinación del número y densidad de las células de Merkel.
- d) Grupo de animales enucleados al nacimiento, sacrificados a las 8S, utilizados para la determinación del número y densidad de fibras del nervio infraorbitario.

Todos los animales se mantuvieron en un bioterio, bajo condiciones de temperatura controlada, y con libre acceso al agua y alimento. Con excepción del grupo de animales sujeto a oscuridad continua desde el nacimiento, el resto de las ratas fue mantenido en condiciones de luz controlada (12hrs de luz/12hrs de oscuridad, luz de 8 AM a 8 PM). El grupo de animales utilizado para la evaluación de los efectos de la privación funcional visual sobre las dimensiones de S1, fue mantenido en condiciones de oscuridad continua a lo largo del desarrollo a partir del nacimiento (ver abajo). Los animales que fueron utilizados para la evaluación de los patrones de actividad motriz se les invirtió el ciclo de luz-oscuridad (ver abajo). Todos aquellos individuos sacrificados o evaluados en la etapa adulta se destetaron en el 21DP.

### **Histoquímica para el complejo enzimático Citocromo Oxidasa (CO)**

La CO constituye un complejo enzimático que forma parte de la cadena respiratoria mitocondrial, y participa en la generación del gradiente de protones que es necesario para la síntesis de adenosín trifosfato. Se ha mostrado que en los tejidos excitables, sus niveles de actividad se correlacionan con los niveles de actividad eléctrica (Wong-Riley, 1989). Con el objetivo de estimar los niveles de actividad de CO en S1, ratas de 10DP y 8S de vida fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (45mg/kg), y perfundidas por vía cardíaca con una solución salina al 0.9% (100ml), seguida de una solución de paraformaldehído al 2.5% (150 ml) en amortiguador de fosfatos sódico (0.1 M, pH 7.4). Terminada la perfusión, el cerebro se extrajo y las cortezas se disecaron, aplanaron entre dos portaobjetos separados por dos milímetros, y congelaron en 2-Metilbutano (Riddle et al., 1993). Se obtuvieron cortes tangenciales seriales de 40  $\mu\text{m}$  en un criostato Leica. Estas rebanadas se colocaron en pozos de cultivo con amortiguador de fosfatos. Los cortes se transfirieron a pozos con la solución utilizada para revelar la actividad de la enzima CO (Wong-Riley, 1980), y se incubaron en ella por 3 horas a temperatura ambiente y en agitación continua. Los cortes se lavaron con amortiguador de fosfatos, se seleccionaron aquellos que contenían barriles, se colocaron en portaobjetos gelatinizados y montaron con un medio hidrosoluble (Cristal Mount, Fisher).

### **Captura de $^3\text{H}$ -2 Desoxiglucosa (2DG)**

La ATPasa de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  es la enzima responsable de mantener los gradientes iónicos y el potencial de reposo en las membranas de las células excitables. La energía que utilizan para realizar esta función se obtiene a partir de la oxidación de la glucosa. Se ha mostrado que el consumo de glucosa en las áreas cerebrales está directamente asociado con el nivel de actividad neuronal (Sokoloff, 1999), por lo que el uso de análogos radioactivos de la glucosa de lenta metabolización (e.g., 2DG) ha sido una de las herramientas utilizadas para “mapear” las áreas cerebrales que se activan bajo circunstancias conductuales específicas. Para estimar la captura de 2DG en S1, ratas adultas control y enucleadas fueron anestesiadas con una mezcla de ketamina / xylazina (40/2 mg/kg, respectivamente), y se les colocaron catéteres de polietileno en la vena yugular externa. Tras 24 horas, se inyectó la 2DG (3 $\mu\text{Ci}$ /gramo de peso) directamente en el catéter, seguida de solución salina al 0.9%. Las ratas fueron regresadas a sus cajas

y se les permitió explorar libremente por 45-50 minutos. Transcurrido este tiempo, las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (250 mg/kg) perfundido a través de catéter y decapitadas. Los cerebros se removieron rápidamente, hemiseccionaron, aplanaron y congelaron como se describió anteriormente (Riddle et al., 1993). Cortes tangenciales (20µm) fueron obtenidos en un criostato (-30° C) y montados en cubreobjetos cubiertos con gelatina, mismos que fueron secados inmediatamente en una plancha caliente (70°C). Los cubreobjetos fueron expuestos a una placa fotográfica sensible a tritio (Amersham, Arlington Heights, IL) por un mes a 4° C. La película fue revelada en D-19 (Kodak), fijado en fijador rápido (Kodak), lavada en agua corriente y secada al aire por 24 horas (Gutiérrez-Ospina et al., 1998).

### **Análisis densitométrico**

Para realizar los análisis densitométricos tanto de la actividad de CO como de la captura de 2DG, imágenes de los cortes y de los autorradiogramas, respectivamente, fueron capturadas y digitalizadas con ayuda de un sistema de análisis de imágenes (IPLab y DX 4.1.1). Todas las imágenes fueron capturadas con los mismos parámetros de intensidad de iluminación, ganancia y nivel de negros. Para el caso de los cortes teñidos con la histoquímica para CO, cada barril del PMBSF fue identificado en las distintas rebanadas y trazado manualmente. De esta forma se determinó la transmitancia correspondiente al área circunscrita. Estos valores se promediaron, para obtener el valor promedio de transmitancia en el PMBSF por hemisferio. Los valores promedio de los hemisferios se normalizaron para obtener el promedio de grupo. Con el objeto de contender con las variaciones asociadas al propio método de tinción, y tener así un control interno del método, se determinó la transmitancia en la sustancia blanca en los mismos cortes utilizados para el análisis de los barriles. El valor fue obtenido en el tracto olfatorio pues esta estructura se observa en la mayoría de los cortes. La transmitancia de la sustancia blanca también fue promediada por hemisferio y por grupo. Se calculó entonces la diferencia porcentual derivada de la relación transmitancia en los barriles / transmitancia en la sustancia blanca en ambos grupos de animales. Estos valores se compararon entre grupos y la significancia estadística fue evaluada por la prueba de t de Student. El mismo procedimiento fue utilizado para la obtención y análisis de los datos referentes a las autorradiografías obtenidas después de la administración de 2DG.

### **Marcaje de células de Merkel con quinacrina**

La periferia sensorial juega un papel importante en la determinación de las características citoarquitectónicas y en las dimensiones de S1 en roedores (Woolsey y Wann, 1976). De hecho, se ha sostenido por años, que la densidad de inervación periférica determina el tamaño de las representaciones centrales (Van der Loos y Dörfel, 1978; aunque ver Welker y Van der Loos, 1986). Por otro lado, estudios previos han mostrado una relación 1:1 entre el número de fibras nerviosas y el número de mecanorreceptores (e.g., células de Merkel) asociados a los folículos de las vibrisas faciales (Yasargil et al., 1988). Estas células epiteliales por ende pueden ser utilizadas como indicadores indirectos de un número determinado de fibras nerviosas. Así, con el fin de observar si existían diferencias en la organización periférica en los animales enucleados que pudieran explicar la expansión observada en S1, animales control y enucleados fueron inyectados con quinacrina (10-15 mg/kg), colorante que marca específicamente las células de Merkel (Nurse et al., 1983; Nurse y Diamond, 1984; Nurse y Faraway, 1988). Transcurridas 24 horas, los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico, y se perfundieron por vía cardíaca con solución salina seguida de una solución de paraformaldehído (4%) en amortiguador de fosfatos (0.1M, pH 7.4). Posteriormente, las mejillas se disecaron, se aplanaron entre dos portaobjetos separados por una distancia de 2 mm y se congelaron en 2-Metilbutano. Se obtuvieron cortes tangenciales (40µm) en un criostato (-24 °C), y se colocaron en portaobjetos recubiertos con gelatina y montados con glicerol. Los cortes se observaron en un microscopio Nikon de epifluorescencia equipado con un sistema de captura de imágenes (IPLab). Un total de 12 imágenes por mejilla fueron capturadas (X20) y digitalizadas. Cada imagen representa un área de 0.102 mm<sup>2</sup> en una zona de la región perifolicular. Se obtuvieron el número y la densidad de células de Merkel, así como el porcentaje de área ocupada por ellas en tres distintos niveles de profundidad desde la superficie (360, 400 y 440 µm). Dado que no existieron diferencias en los parámetros utilizados en los distintos niveles estudiados, ni entre mejilla izquierda ni derecha, los datos obtenidos fueron promediados por grupo y comparados mediante un análisis de varianza.

### **Número de fibras en la rama infraorbitaria del nervio trigémino**

Estudios previos han mostrado una relación proporcional entre el número de neuronas en el ganglio del trigémino y el tamaño relativo de las representaciones de las vibrisas faciales en la corteza (Lee y Woosley, 1975). Con el objeto de estimar si existían cambios en el número de neuronas invirtiendo las vibrisas que explicaran el aumento en el tamaño de las representaciones centrales en las ratas enucleadas, contamos el número de fibras en la rama infraorbitaria del nervio trigémino. Para ello, se anestesiaron ratas control y enucleadas de 8S con pentobarbital sódico (45mg/kg) y perfundieron con una solución salina seguida de una solución de paraformaldehído (4%) y glutaraldehído (1.5%) en amortiguador de fosfatos. Los cerebros fueron entonces extraídos y la rama infraorbitaria del nervio trigémino cuidadosamente disecada y postfijada por tres horas. Transcurrido el tiempo de la postfijación, la mitad de las muestras fue incluida en Tissue-tek para la obtención de cortes transversales (50 $\mu$ m, teñidos con azul de toluidina) en un criostato a  $-24^{\circ}$  C. Una vez montados en portaobjetos, imágenes de los cortes fueron capturadas, digitalizadas y utilizadas para determinar el área de la sección, el número y la densidad de fibras de la rama infraorbitaria del nervio trigémino. Se analizaron tres cortes proximales al ganglio por cada nervio, separados por una distancia de 50  $\mu$ m uno del otro. Para medir el área se capturaron imágenes con un aumento de 4 X y se dibujó manualmente el perímetro en la computadora (IPLab). Para estimar el número de fibras, el área de sección de cada nervio fue dividida en cuatro cuadrantes. Se midió un área de 100  $\mu$ m<sup>2</sup> a partir del centro de cada cuadrante con un aumento de 20X. Posteriormente, se cuantificó manualmente el número de fibras en esta área y finalmente, se obtuvieron los valores promedio por grupo, y se compararon animales control y enucleados mediante la prueba estadística t de Student.

### **Actividad Motriz**

Se efectuaron pruebas de actividad motriz con el objeto de evaluar si existían diferencias en las variables de movimiento, consideradas como índices de exploración, entre ratas control y enucleadas al nacimiento. Con el fin de asegurar que los animales estaban sanos para realizar las pruebas de conducta, los animales fueron sometidos a una evaluación neurológica antes de las pruebas de actividad motriz (Deckel et al., 1986; Dunnet et al., 1987). Esta consiste en la evaluación del aspecto físico general de la rata,

así como de pruebas de capacidad de respuesta. Posteriormente, los animales control y enucleados jóvenes (n=6/grupo, 45DP) y adultos (n=8/grupo, 8S) fueron colocados en cajas de actividad motriz acopladas a un sistema automatizado de registro *Digiscan* (Omnitech Electronics s.f.) controlado por el programa *Digipro* (Omnitech Electronics s.f.). Dicho sistema consiste en cajas de acrílico rodeadas por generadores de haces de luz infrarroja y sensores a la misma, que al ser interrumpidos proporcionan el registro de distintos parámetros de movimiento (Ver Tabla 1). Se realizaron 3 ensayos en el ciclo activo de la rata, cada uno con una duración de 12 horas. Para el análisis final, sin embargo, sólo se tomó el último de los registros que muestra la conducta del animal una vez habituado a su entorno, en condiciones semejantes a aquellas de las cajas del bioterio en las cuales tiene lugar el proceso de plasticidad. Tras obtener los registros, se realizó un análisis de la varianza.

Tabla 1. Parámetros de actividad motriz considerados en este estudio.

<i>Actividad horizontal y vertical.</i> Número total de interrupciones del haz infrarrojo que ocurrieron en el sensor horizontal y vertical, respectivamente durante el periodo de muestreo.
<i>Distancia total.</i> Son los centímetros de distancia recorrida por el animal en un periodo de muestreo. Es un indicador de actividad ambulatoria.
<i>Número de movimientos horizontales y verticales.</i> Es el número de movimientos horizontales y verticales discretos. Cada vez que la actividad ambulatoria se detiene por más de un segundo, esta variable se incrementa en una unidad. Los movimientos individuales son separados uno del otro por un periodo de descanso de por lo menos un segundo.
<i>Tiempo de movimiento y descanso (seg).</i> Es el tiempo que corresponde a la deambulación y descanso del animal en el periodo de muestreo.
<i>Tiempo vertical (seg).</i> Esta variable se incrementa cuando el animal interrumpe el sensor vertical por más de un segundo.
<i>Cuenta de estereotipia.</i> Se registra cuando el animal interrumpe el mismo haz o conjunto de haces.

## RESULTADOS

### Área de los barriles

La Figura 3 y Tabla 2 resumen los hallazgos obtenidos con relación a los cambios en el área de los barriles en los distintos grupos experimentales. Las comparaciones hechas entre los animales control y enucleados sacrificados a los 10DP muestran que en estos últimos, el área promedio de los barriles se incrementó en un 16%. La misma comparación hecha entre ratas adultas de 8S documentó un aumento del 18% en el área promedio de los barriles de los animales enucleados al nacimiento. Los animales enucleados bilateralmente a los 7DP y sacrificados a las 8S de edad, no presentan cambios significativos en el tamaño de los barriles con respecto al grupo control. Las ratas enucleadas bilateralmente al nacimiento, hemivibrisectomizadas unilateralmente a los 7DP, y sacrificadas a las 8S muestran un aumento del tamaño de los barriles de un 11% en el hemisferio privado y de un 13% en aquél no privado. Los animales que fueron sometidos a condiciones de oscuridad permanente desde el nacimiento, y sacrificados a las 8S de edad, no presentaron una diferencia significativa en el tamaño de los barriles con respecto a su grupo control. En conjunto, estos resultados sugieren que la actividad neuronal asociada con el uso no juega un papel determinante como factor promotor de la expansión de los barriles de S1 en los animales enucleados. Esta conclusión es reforzada por el hecho de que la expansión ocurre durante el periodo de especificación de S1 (i.e., la primera semana de vida), momento en el cual la actividad exploratoria es mínima, el movimiento voluntario de los bigotes está ausente y la actividad cortical provocada es reducida. Debido a que la expansión de los barriles ocurre primordialmente durante la primera semana, la diferencia en el tamaño de los mismos en animales adultos control y enucleados resulta de su crecimiento isométrico a lo largo del desarrollo. Esto se confirma con el hecho de que el área promedio de los barriles que representan las vibrisas en S1 se incrementa aproximadamente 47% desde los 7DP edad hasta las 8S de vida en ambos grupos de animales. Así, el proceso de crecimiento no se ve alterado.

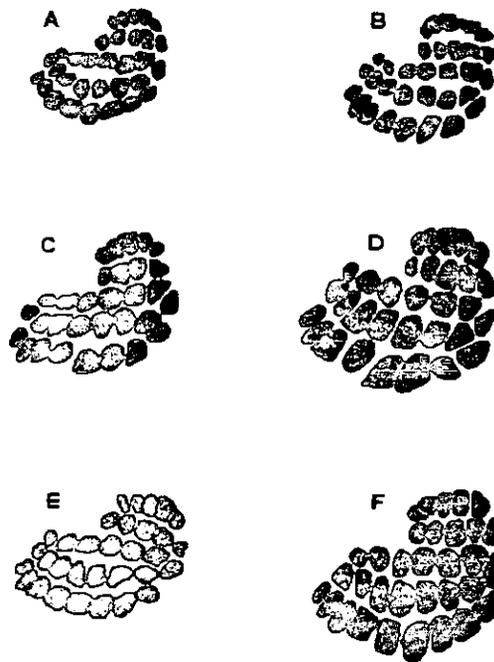


Figura 3. Reconstrucción bidimensional del PMBSF en S1 de ratas pertenecientes a distintos grupos experimentales. (A) Rata control con 7 días de edad. (B) Rata enucleada bilateralmente al nacimiento, sacrificada a los 7 días de edad. (C) Rata control con 8 semanas de edad. (D) Rata enucleada bilateralmente al nacimiento sacrificada a las 8 semanas de edad. (E) Rata expuesta a oscuridad permanente, sacrificada a las 8 semanas de edad. (F) Rata enucleada bilateralmente y hemivibrisectomizada, sacrificada a las 8 semanas de edad, sólo se muestra la corteza del lado privado.

Tabla 2. Área de la zona de barriles PMBSF en S1 en ratas enucleadas y control bajo distintas condiciones experimentales, en edades de 7 días y 8 semanas.

Grupos n = 20 hemisferios	7 días de edad Área de la zona de barriles (mm <sup>2</sup> +EE)	8 semanas de edad Área de la zona de barriles (mm <sup>2</sup> +EE)
Control	0.063 ± 0.0031	0.118 ± 0.0013
Enucleado bilateralmente al nacimiento	0.073 ± 0.0033 (16%↑)*	0.139 ± 0.0028 (18%↑)**
Enucleado bilateralmente a los siete días de nacido	-----	0.117 ± 0.0051
Enucleado bilateralmente al nacimiento y hemivibrisectomizado unilateralmente a los siete días	-----	<i>contralateral</i> 0.132 ± 0.0050 (11%↑)** <i>ipsilateral</i> 0.133 ± 0.0037 (13%↑)**
Oscuridad permanente a partir del nacimiento	-----	0.111 ± 0.0052

Prueba T de Student, \* p<0.01, \*\*p<0.001; EE es error estándar.

### **Actividad de la enzima citocromo oxidasa (CO)**

Debido a que nuestros datos anatómicos sugieren indirectamente que la actividad neuronal asociada con el uso sensorial no juega un papel central en la expansión de la zona de barriles en S1, recurrimos al uso de técnicas histoquímicas para la detección de la actividad de la enzima CO. Esta enzima forma parte de la cadena respiratoria, y participa en la vía metabólica responsable de la producción de ATP. Debido a que las neuronas consumen la mayor parte del ATP que producen durante la repolarización de sus membranas, los niveles de actividad de la CO indirectamente indican los niveles crónicos de la actividad metabólica neuronal (Wong-Riley, 1989). Análisis densitométricos mostraron que la actividad oxidativa, determinada mediante el uso de la histoquímica para CO, en los barriles de los animales control y enucleados fue esencialmente la misma tanto en animales de 10 días como en los de 8 semanas de edad ( Figura 4 y Tabla 3).

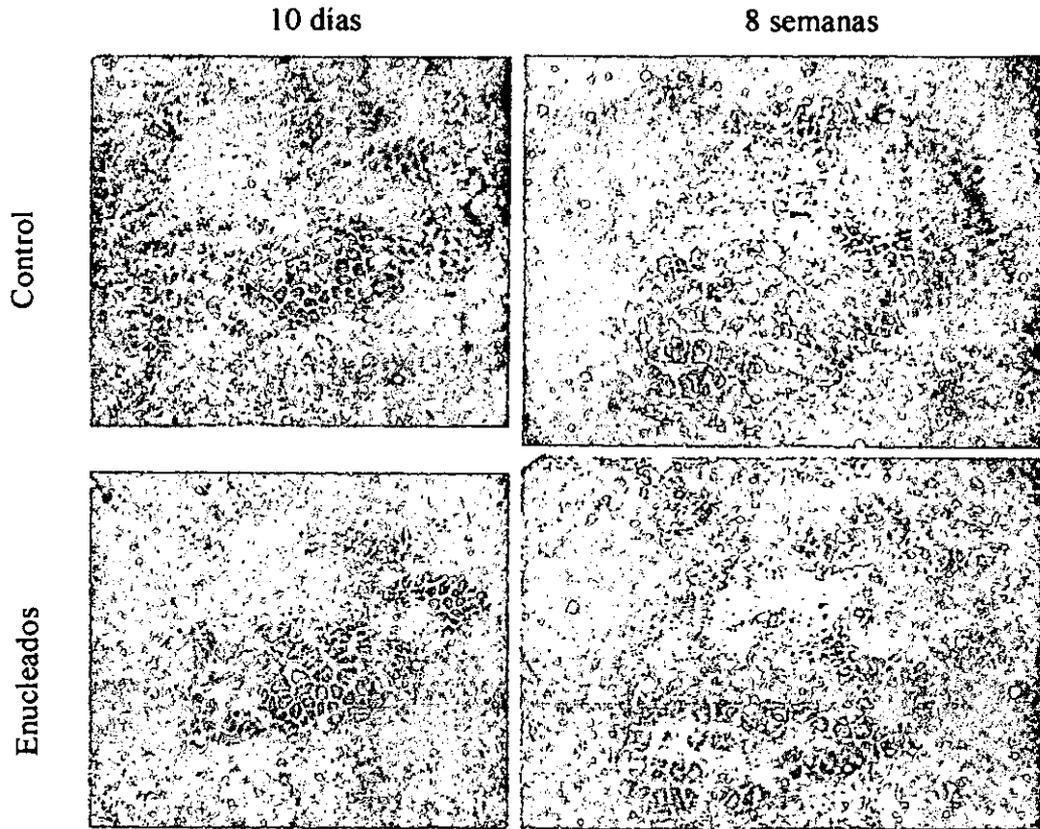


Figura 4. Fotomontaje del mapa somatosensorial a partir de cortes tangenciales teñidos para la enzima citocromo oxidasa en ratas control y enucleadas de 10 días y 8 semanas de edad. No se observa diferencia en la intensidad de la reacción para la enzima entre los grupos de animales de la misma edad.

Tabla 3. Valores promedio relativos de densidad óptica de la tinción para la enzima citocromo oxidasa, en ratas control y enucleadas neonatalmente.

Grupo	10 días *DO ± EE	8 semanas DO ± EE
Control n= 12 hemisferios	24.1 ± 46	42.6 ± 15
Enucleados n= 12 hemisferios	28.5 ± 40	44 ± 28

\*DO es densidad óptica de barriles/sustancia blanca; EE es error estándar.

### Niveles de captura de 2DG

Los niveles de captura de 2DG en el cerebro se relacionan estrechamente con los de actividad neuronal (Sokoloff 1999). En este estudio no se evidenciaron diferencias significativas en el nivel de captura relativa de 2DG en animales control y enucleados en S1 (Tabla 4 y Figura 5). Sin embargo, el patrón de los niveles de actividad neuronal es distinto en ambos grupos, siendo más intenso en los animales control. Esto se ha relacionado con la mayor actividad observada en este último grupo de animales.

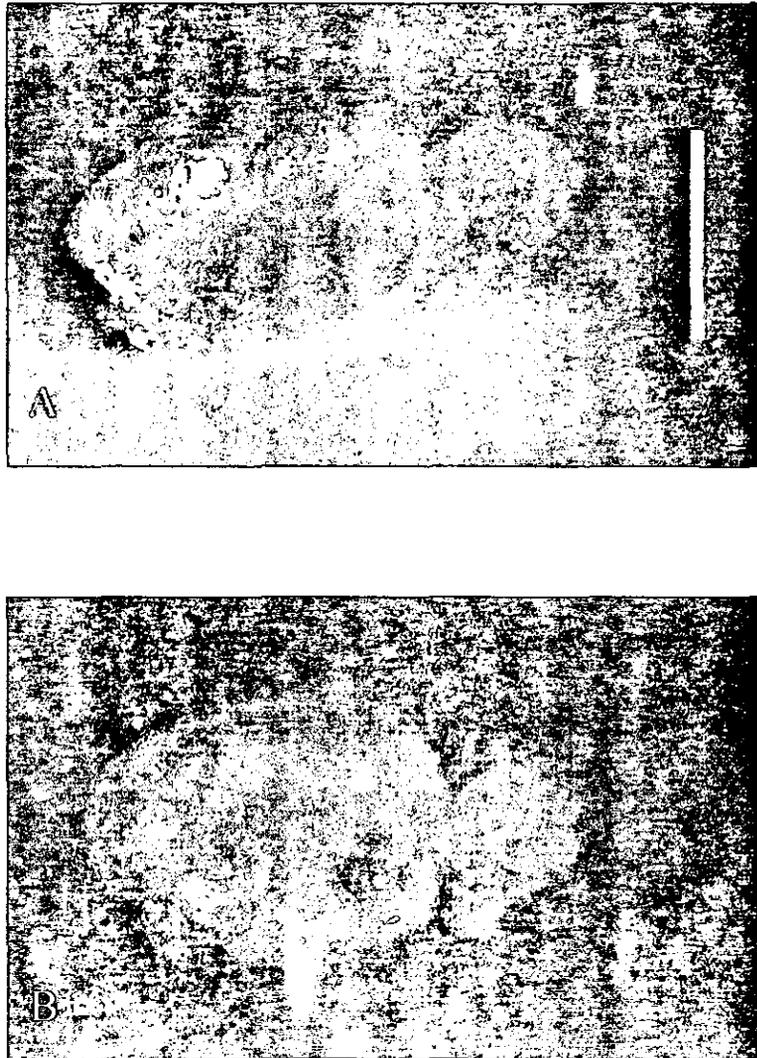


Figura 5. Reconstrucción tridimensional a partir de secciones tangenciales de cerebro, que ilustra el patrón general de captura de 2DG en animales control (A) y enucleados (B) de 8 semanas de edad.

Tabla 4. Valores relativos de densidad óptica de captura de 2DG en animales adultos enucleados y control.

Grupos	8 semanas DD ± EE*
Control n = 4 hemisferios	53 ± 14
Enucleado n = 4 hemisferios	76 ± 17

\*Unidades arbitrarias. prueba t de Student; DD ± EE es densidad óptica de barriles / materia blanca ± error estándar.

En conjunto, los datos anatómicos y metabólicos obtenidos permiten apoyar la idea de que la expansión de S1 observada en animales enucleados de 8 semanas no es dependiente de actividad neuronal asociada al uso o a la experiencia sensorial.

### Células de Merkel

Los resultados se ilustran en la Tabla 5 y Figura 6. Los animales enucleados de 10DP mostraron un menor número de células de Merkel al ser comparados con sus contrapartes control. Sin embargo, el porcentaje de área ocupada por estas células y la densidad celular es similar en ambos grupos. Las ratas control y enucleadas de 8S mostraron un número similar de células de Merkel, así como porcentaje de área ocupada y densidad celular. No obstante la similitud observada entre los grupos control y experimental de animales adultos, hay una diferencia si se comparan con los jóvenes. Estos últimos tienen un mayor número de células, porcentaje de área ocupada y densidad celular. Los datos presentados sugieren que la densidad de inervación periférica asociada a las mejillas y folículos en los animales enucleados es semejante a la de los animales control. La disminución en el número de células de Merkel, junto con la similitud en la densidad y tamaño celulares mostrada por los animales jóvenes enucleados con relación a sus contrapartes control, sugiere que la enucleación altera, por un lado, la generación de células de Merkel y, por otro, el desarrollo de la mejilla (probablemente retarda su crecimiento). Además, nuestros resultados documentan una disminución del porcentaje del área ocupada por células de Merkel y una disminución en su número a lo largo del desarrollo. Ambas observaciones parecen apoyar la idea de que las células de Merkel mueren conforme los animales alcanzan la madurez. Dicho proceso de muerte celular es

animales alcanzan la madurez. Dicho proceso de muerte celular es menos pronunciado en los animales enucleados.

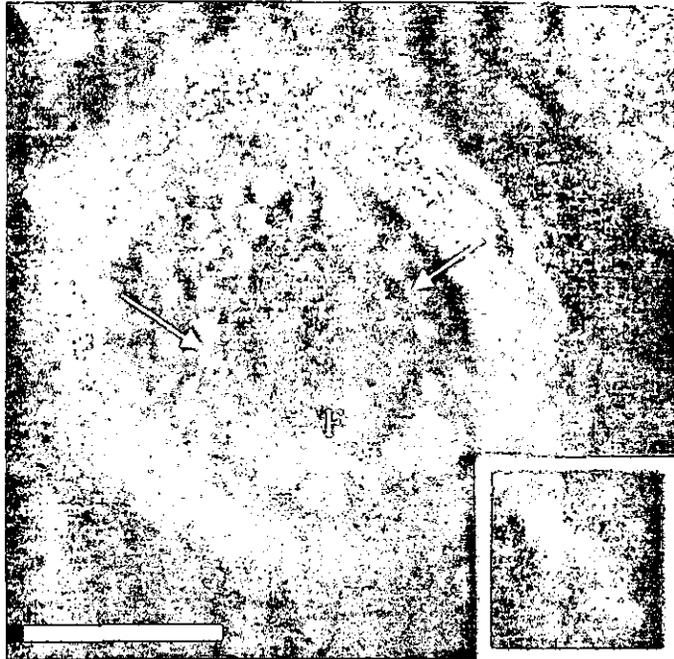


Figura 6. Fotomicrografía que muestra células de Merkel en el folículo piloso facial (F) teñidas con quinacrina. En el recuadro se ilustra una sola célula de Merkel . Barra 100  $\mu\text{m}$ .

Tabla 5. Número, área y densidad de células de Merkel en ratas control y enucleadas, de 10 días y 8 semanas de edad.

Grupo	10 días de edad n=12 hemisferios 75 cortes por grupo			8 semanas de edad n=10 hemisferios 75 cortes por grupo		
	Número de células <sup>†</sup> ± EE	Área ocupada % ± EE	Densidad celular/ $\mu\text{m}^2$	Número de células <sup>†</sup> ± EE	Área ocupada % ± EE	Densidad celular/ $\mu\text{m}^2$
Control	373 ± 15	7.2 ± 0.4	1/20	205 ± 6 <sup>#</sup>	4.8 ± 0.3 <sup>#</sup>	1/24
Enucleado	325 ± 13 <sup>*</sup>	6.5 ± 0.2	1/21	206 ± 6 <sup>#</sup>	4.8 ± 0.1 <sup>#</sup>	1/24

ANOVA v.s. control, <sup>\*</sup>p < 0.02 ; ANOVA vs. jóvenes, <sup>#</sup>p < 0.01, <sup>†</sup> 102, 907  $\mu\text{m}^2$  área de cada corte: EE es error estándar.

### Número de fibras en la rama infraorbitaria del nervio trigémino

Los resultados muestran que tanto el área transversal del nervio infraorbitario como el número de fibras que lo constituyen es similar entre las ratas enucleadas y control de 8 semanas. (Figura 7, Tabla 6). Estos datos apoyan la idea de que los cambios provocados por la enucleación ocurren de manera independiente la periferia.

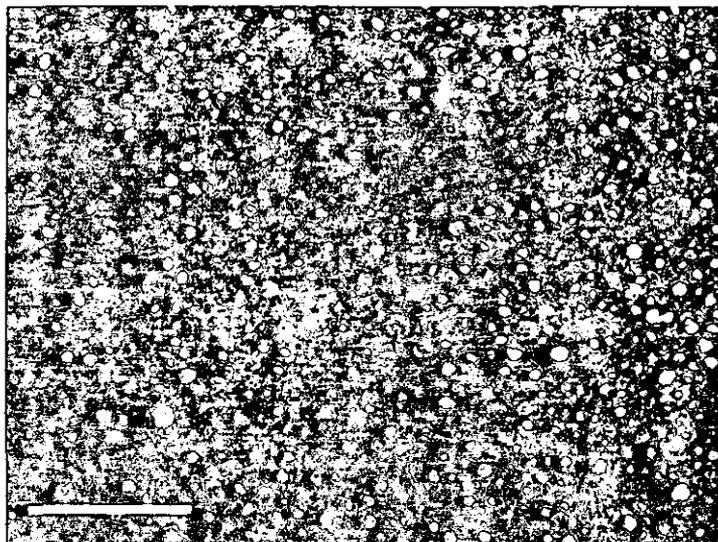


Figura 7. Fotomicrografía del corte transversal del nervio infraorbitario de rata de 8 semanas de edad; la barra representa 10  $\mu\text{m}$ .

Tabla 6. Área transversal del nervio infraorbitario y número de fibras del mismo en ratas adultas enucleadas y control con 8 semanas de edad.

Grupo	Área del nervio ( $\text{mm}^2 \pm \text{DE}$ ) n=12 hemisferios	Número de fibras en 100 $\mu\text{m}^2$ (número $\pm \text{DE}$ ) n=12 hemisferios
Control	$1.35 \pm 0.37$	$79 \pm 22$
Enucleado	$1.58 \pm 0.39$	$74 \pm 17$

Prueba T de Student; DE es desviación estándar.

### **Actividad Motriz**

Con el fin de detectar las posibles diferencias en las estrategias de exploración de ratas control y enucleadas de distinta edad, se recurrió al registro de parámetros de movimiento mediante un sistema automatizado de actividad motriz (Digiscan Omnitech, s.f.). (Ver Figura 8 y 9). Al comparar animales jóvenes (45DP) control y enucleados las variables que registran el número de movimientos horizontales y verticales en la caja de registro tienen valores similares; la única diferencia es que la distancia recorrida en los enucleados está incrementada. En el caso de los adultos, entre los grupos se advirtió una diferencia marcada entre las variables de movimiento, siendo las ratas enucleadas las que registraron una disminución de las mismas. Este hecho confirma que en todo caso, las ratas enucleadas jóvenes y adultas se mueven menos que sus contrapartes control.

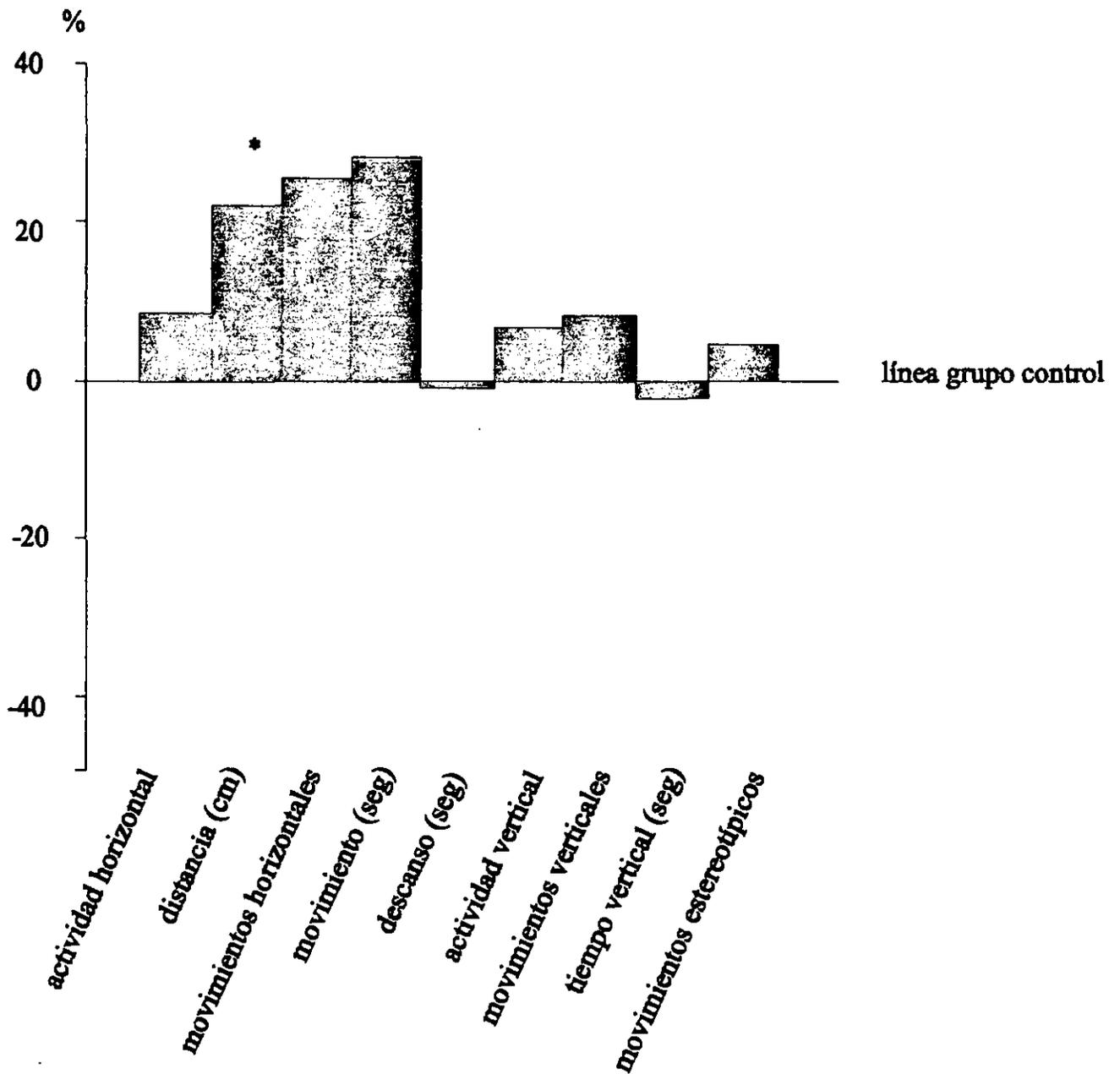


Figura 8. Porcentaje de diferencia en los patrones de actividad motriz en ratas enucleadas de 10 días con respecto a sus contrapartes control. \*Prueba Tukey HSD  $p < 0.01$ .

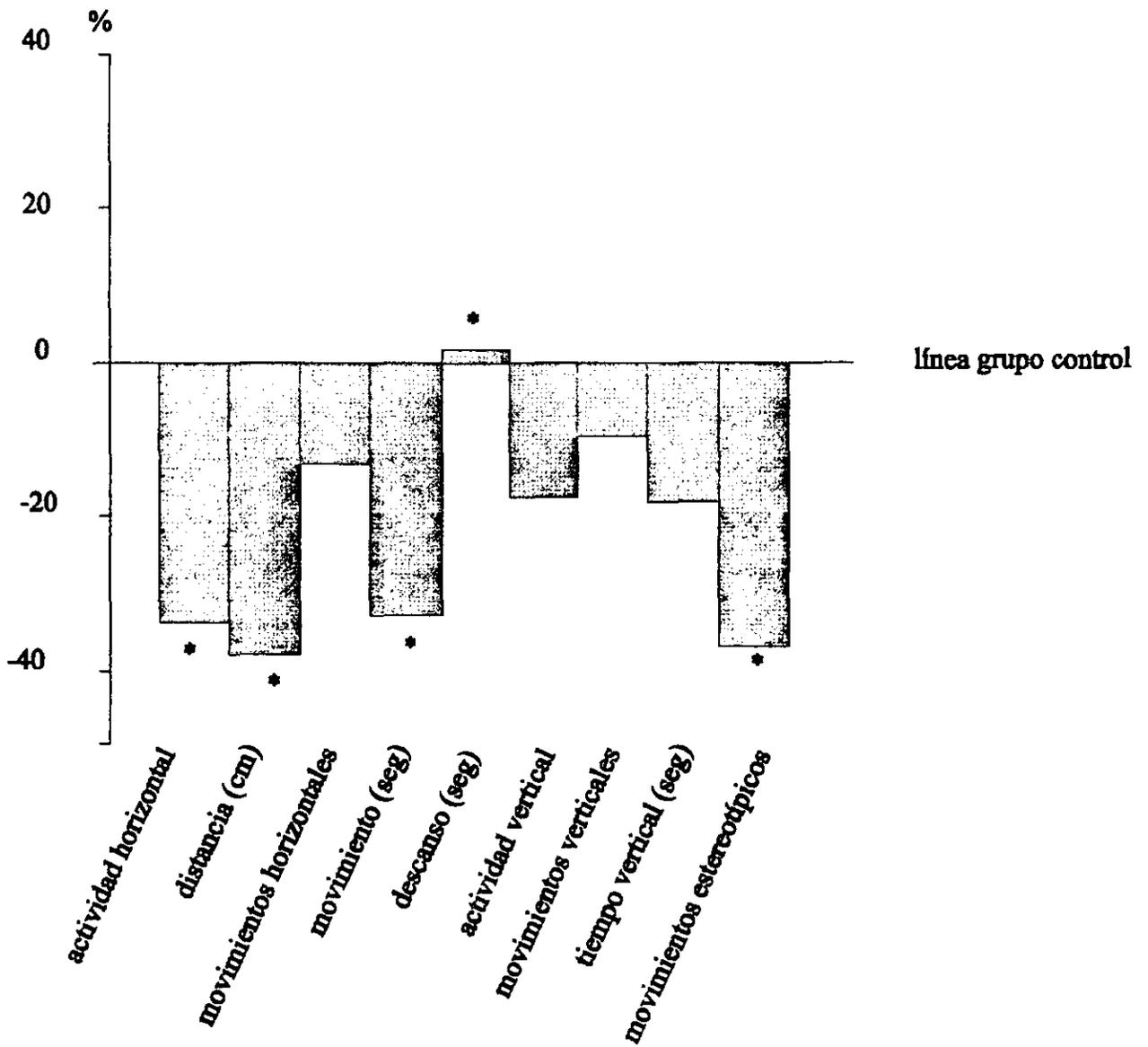


Figura 9. Porcentaje de diferencia en los patrones de actividad motriz en ratas enucleadas de 8 semanas con respecto a sus contrapartes control. \*PruebaTukey HSD  $p < 0.01$ .

## DISCUSIÓN

La plasticidad es el epifenómeno central que subyace a la estructura y función cerebrales. A lo largo de varios años, y en un intento por entender los mecanismos responsables de facilitar la plasticidad en el cerebro, se ha tratado de identificar a los factores que participan en la respuesta plástica del sistema nervioso ante diferentes condiciones experimentales y naturales. Entre los factores sugeridos destacan la actividad neuronal asociada con el uso sensorial, la experiencia sensorial, el aprendizaje y la memoria. Además se consideran a moléculas solubles tales como los neurotransmisores, factores de crecimiento, y hormonas, así como modificaciones de la forma, estructura y función neuronales y sinápticas (Kolb, 1995). Por lo general se acepta que la interrelación entre estos elementos conduce al cambio plástico. No obstante esta idea, y aún cuando se han podido identificar algunos de los posibles factores involucrados con la plasticidad, a la fecha no se cuenta con una teoría general que integre a éstos y otros factores y a sus interacciones en, y a través, de distintos niveles de organización. En este contexto, evidencia publicada en fechas recientes cuestiona el papel de la actividad neuronal asociada con el uso sensorial y la experiencia sensorial como factor promotor de plasticidad en el sistema nervioso central (Crowley y Katz, 2000). Así, uno de los objetivos del presente trabajo fue el de re-evaluar la participación de ésta en la plasticidad sensoriomodal.

Estudios previos han mostrado que la pérdida de la visión conduce a una expansión de las representaciones corticales de los órganos sensoriales responsables de generar información somestésica y auditiva (Rauschecker y Korte, 1993). Se ha sugerido que esta expansión resulta del incremento de los niveles de actividad asociada con el uso incrementado de las modalidades sensoriales intactas. En apoyo a esta idea, Zheng y Purves (1995) mostraron que la densidad de los vasos sanguíneos en los barriles de S1 se incrementa significativamente, y Riddle y colaboradores (1993) observaron que en tejidos excitables parece existir una correlación entre la actividad y la densidad capilar. Si bien, para la mayor parte de los neurobiólogos es atractiva la idea de que la actividad neuronal asociada al uso sensorial promueve los cambios plásticos cerebrales, la evidencia descrita arriba en su favor es débil. El estudio de la densidad vascular referido (Zheng y Purves, 1995) presenta tres limitaciones

importantes. La primera es que la densidad y número de vasos sanguíneos también varía en los tejidos en desarrollo con relación a los requerimientos metabólicos asociados al crecimiento *per se* (Clapp et al., 1993), y la participación de este elemento no fue descartada en el estudio. Segundo, los datos analizados fueron obtenidos solamente en cerebros de animales adultos, por lo que no es posible establecer si los cambios en la densidad vascular responden a cambios en la actividad neuronal en S1 a lo largo del desarrollo, o bien son el resultado del sobrecrecimiento inicial (ver más abajo) de los barriles en los animales ciegos. Tercero, en el trabajo citado, los barriles que muestran un mayor grado de expansión no presentan una mayor densidad vascular.

En contraposición a la idea que apoya a la participación de la actividad neuronal asociada con el uso sensorial como factor promotor de la expansión de S1 en animales ciegos, nuestros resultados sugieren que este elemento tiene un papel menor en la plasticidad sensoriomodal. Los datos que apoyan esta conclusión son:

- Los índices metabólicos de actividad neuronal (i.e., los niveles de actividad del complejo CO y de captura de 2DG) no difieren significativamente entre los animales control y enucleados a distintas edades. Reconocemos, sin embargo, que estos índices no son concluyentes. Por un lado, la falta de diferencias podría deberse a que los niveles de actividad no cambian (Gutiérrez-Ospina et al., 1998); y por el otro, a que el sistema enzimático y la captura de glucosa trabajan al máximo en condiciones normales. Se requerirán estudios electrofisiológicos para distinguir entre estas dos posibilidades.
- Los cambios plásticos tienen la misma magnitud tanto a los diez días, como a las ocho semanas. Esto significa que la expansión ocurre durante el período de especificación, al cual le sigue un crecimiento escalar. La expansión, por tanto, sucede cuando los animales tienen poca actividad motriz. De hecho, el movimiento formal de las vibrisas ocurre hasta el día 12 (Micheva y Beaulieu, 1997), cuando los animales pasan la mayor parte del tiempo dormidos.
- La hemivibrisectomía no previene la expansión de la representación afectada en animales ciegos. Más aún, la presencia de vibrisas en la hemi-cara no privada, no

conduce a expansión adicional en la zona de barriles en S1, no obstante que se supondría mayor necesidad de su uso.

- Los animales criados en oscuridad total desde su nacimiento, no mostraron expansión de S1. Si seguimos la línea argumental que sugiere que un aumento de la actividad neuronal es dependiente de mayor uso, se esperaría que dada la carencia de la función visual, estos animales deberían presentar una expansión en S1. Sin embargo, éste no es el caso.
- Los animales adultos enucleados después del período de especificación de S1 (7 días), no muestran expansión en esta área, no obstante que a lo largo de su desarrollo la corteza de barriles crece significativamente (Riddle et al., 1992). Este hecho apoya la idea de que la actividad incrementada dependiente del uso no es la causa definitiva de la expansión, y sugiere que los cambios tienen un período crítico.
- Las pruebas conductuales muestran que las variables motrices consideradas como índices de exploración (e.g., movimientos verticales y horizontales) no difieren significativamente entre los animales control y enucleados jóvenes. De hecho, en los animales adultos las variables de movimiento se encuentran disminuidas. Debe reconocerse que en este estudio no se evalúan los movimientos finos de las vibrisas; sería de gran utilidad poder registrar estos movimientos para poder respaldar en mayor grado esta conclusión.

En resumen, los resultados tienden a limitar el papel de los niveles de actividad asociada con el uso en la plasticidad sensoriomodal cortical en ratas ciegas. En apoyo a esta conclusión, se han mostrado cambios en las dimensiones de las sub-representaciones del mapa sensorial después de la amputación *in utero* de la pata anterior (Killackey y Dawson, 1989) y la vibrisectomía neonatal (Woolsey y Wann, 1976). Estos cambios suceden muy temprano en el desarrollo cuando hablar de uso incrementado es difícil de sostener.

Si la actividad neuronal no es primordial para que la plasticidad sensoriomodal ocurra, ¿qué elementos son responsables de inducirla? Estudios previos han mostrado que modificaciones del sistema nervioso periférico tienen un impacto mayor, quizás a través de fenómenos inductivos (Purves et al., 1994) sobre las representaciones corticales (Woolsey,

1990). Asimismo, desde hace varios años se reconoce que la densidad de inervación y el número de neuronas ganglionares determina el tamaño relativo de las representaciones corticales (Lee y Woosley, 1975). Así, otra posibilidad es que las modificaciones periféricas induzcan cambios en el tamaño de la representación central. Para evaluar esta posibilidad, estimamos la densidad de fibras en el nervio infraorbitario, y de células de Merkel perifoliculares en la mejilla de animales control y enucleados. Los análisis no mostraron diferencia en ambos parámetros, lo cual apoya que los cambios centrales ocurren de manera independiente con relación a algunos de los parámetros anatómicos periféricos. Sin embargo, habría que estudiar las ramas terminales de los axones para estar plenamente seguros de esta afirmación. No obstante esto, la conclusión es reforzada por datos que muestran que el tamaño de los barriles y otros módulos corticales y subcorticales es independiente, hasta cierto punto, de la periferia. (Gutierrez-Ospina et al., 1996; Haidarliu y Ahissar, 2000).

Nuevamente, si las observaciones limitan el papel de los niveles de actividad y cambios en la periferia como factores promotores de plasticidad sensoriomodal, ¿cuáles son los factores que la promueven? Se ha propuesto que las distintas vías sensoriales compiten por espacio cortical durante el período de especificación de las áreas corticales (Diamond, 1982; Wallace y Fox, 1999). Debido a que los axones compiten tanto por sitios blanco como por factores derivados de ellos, en nuestro modelo, la ablación ocular podría conducir a un aumento relativo en el número de sitios blanco y/o en la disponibilidad de factores tróficos en la corteza visual privada, que promovieran su invasión por aferentes somestésicas y auditivas. Esto resultaría en la expansión de las cortezas somatosensorial y auditiva primarias.

Recientemente, se ha empezado a reconocer la importancia que tienen las acciones auto/paracrinas en el desarrollo de las vías neuronales. Otra posibilidad que pudiera explicar las alteraciones corticales observadas en animales ciegos desde el nacimiento, es que la pérdida de los ojos condujera al incremento en la producción de factores auto/paracrinos que actúan como promotores del crecimiento de las aferentes somestésicas y auditivas. En apoyo a esta posibilidad, se ha mostrado que el descenso de los niveles de GABA y el incremento de los niveles de serotonina, acetilcolina y catecolaminas en S1 facilitan la expansión del PMBSF en animales en desarrollo (Gutiérrez Ospina, resultados sin publicar).

Finalmente, cambios en la tasa de crecimiento y desarrollo de las aferentes sensoriales asociadas a los órganos sensoriales intactos, como resultado de la ablación de los ojos, pudieran conducir a cambios en las dimensiones relativas de las cortezas sensoriales en animales ciegos. Asimismo, evidencia reciente sugiere que la actividad neuronal espontánea tiene un papel como factor instructivo en el ensamblaje de los circuitos neuronales (Weliky, 1999). Así, es probable que modificaciones en el patrón de la actividad neuronal espontánea pudieran favorecer la presentación de procesos plásticos como los observados en animales ciegos.

## CONCLUSIONES

Con base en estas observaciones se puede concluir lo siguiente:

- Los niveles de la actividad neuronal asociada con el uso sensorial y las modificaciones periféricas juegan un papel restringido en los procesos plásticos sensoriomodales.
- Para que ocurran cambios anatómicos importantes en la representación cortical de S1 es necesaria la pérdida anatómica del ojo.
- Los cambios observados en los cerebros de animales ciegos parecen estar sujetos a un período crítico y por ende dependen del día en que se lleva a cabo la enucleación.
- Los cambios observados en los cerebros de animales ciegos pudieran ser mediados por fenómenos de competencia.

Finalmente, cambios en la tasa de crecimiento y desarrollo de las aferentes sensoriales asociadas a los órganos sensoriales intactos, como resultado de la ablación de los ojos, pudieran conducir a cambios en las dimensiones relativas de las cortezas sensoriales en animales ciegos. Asimismo, evidencia reciente sugiere que la actividad neuronal espontánea tiene un papel como factor instructivo en el ensamblaje de los circuitos neuronales (Weliky, 1999). Así, es probable que modificaciones en el patrón de la actividad neuronal espontánea pudieran favorecer la presentación de procesos plásticos como los observados en animales ciegos.

## CONCLUSIONES

Con base en estas observaciones se puede concluir lo siguiente:

- Los niveles de la actividad neuronal asociada con el uso sensorial y las modificaciones periféricas juegan un papel restringido en los procesos plásticos sensoriomodales.
- Para que ocurran cambios anatómicos importantes en la representación cortical de S1 es necesaria la pérdida anatómica del ojo.
- Los cambios observados en los cerebros de animales ciegos parecen estar sujetos a un período crítico y por ende dependen del día en que se lleva a cabo la enucleación.
- Los cambios observados en los cerebros de animales ciegos pudieran ser mediados por fenómenos de competencia.

## REFERENCIAS

- Bedi KS, Bhide PG (1988) Effects of environmental diversity on brain morphology. *Early Human Dev* 17:107-143.
- Bronchti G, Schöenberger N, Welker E, Van der Loos H (1992) Barreldfield expansion after neonatal eye removal in mice. *NeuroReport* 3: 489-492.
- Clapp C, Martial JA, Guzmán C, Rentier-Delrue F, Weiner RI (1993) The 16-kilodalton n-terminal fragment of human prolactin is a potent inhibitor of angiogenesis. *Endocrinology* 133(3): 1292-1299.
- Crowley JC, Katz LC (2000) Early development of ocular dominance columns. *Science* 290:1321-1324.
- Dawson DR, Killackey HP (1987) The organization and mutability of the forepaw and hindpaw representations in the somatosensory cortex of the neonatal rat. *J Comp Neur* 256:246-256.
- Deckel AW, Morán TH, Coyle JT, Sanberg PR, Robinson RG (1986) Anatomical predictors of behavioral recovery following fetal striatal transplants. *Brain Res* 365: 249-258.
- Diamond J (1982) Modeling and competition in the nervous system: clues from the sensory innervation of skin. *Curr Top Dev Biol* 17:147-205.
- Diamond MC, Drech D, Rosenzweig MR (1964) The effects of an enriched environment on the histology of the rat cerebral cortex. *J Comp Neur* 123:111-120.
- Dunnet SB, Whishaw IQ, Jones GH, Bunch ST (1987) Behavioural, biochemical and histochemical effects of different neurotoxic amino acids injected into nucleus basalis of rats. *Neurosci* 20(2) 653-669.
- Feldman DE, Nicoll RA, Malenka R (1999) Synaptic plasticity at thalamocortical synapses in developing rat somatosensory cortex: LTP, LTD and silent synapses. *J. Neurobiol* 41(1):92-101.
- Gandelman R (1992) *The psychobiology of behavioral development*. Oxford: Oxford UP.
- Gutiérrez-Ospina G, Calikoglu AS, Ye P, D'Ercole AJ (1996) In vivo effects of insulin-like growth factor-I on the development of sensory pathways: analysis of the primary somatic sensory cortex (S1) of transgenic mice. *Endocrinology* 137(12):5484-5492.
- Gutiérrez-Ospina G, Díaz-Cintra S, Aguirre-Portilla A, Aguilar-Vázquez A, Robles-López S, Barrios FA (1998) Comparable activity levels in developmentally deprived and non-deprived

layer IV cortical columns of the adult rat primary somatosensory cortex. *Neurosci Lett* 247:5-8.

Haidarliu S, Schiller J, Ahissar E (2000) Structural representation of the whisker row in the VPM: barreloid and whisker lengths are inversely related. *Soc Neurosci Abstr* 26: 1464.

Jensen KF, Killackey HP (1987a) Terminal arbors of axons projecting to the somatosensory cortex of the adult rat. I. The normal morphology of specific thalamocortical afferents. *J Neurosci* (11) 7:3529-3543.

Jensen KF, Killackey HP (1987b) Terminal arbors of axons projecting to the somatosensory cortex of the adult rat. II. The altered morphology of thalamocortical afferents following neonatal infraorbital nerve cut. *J Neurosci* 7(11):3544-3553.

Kaas JH, Merzenich MM, Killackey HP (1983) The reorganization of somatosensory cortex following peripheral nerve damage in adult and developing mammals. *Ann Rev Neurosci* 6:325-356.

Killackey HP, Belford BR (1979) The formation of afferent patterns in the somatosensory cortex of the neonatal rat. *J Comp Neur* 183:285-304.

Killackey HP, Dawson DR (1989) Expansion of the central hindpaw representation following fetal forelimb removal in the rat. *Eur J Neurosci* 1: 210-221.

Killackey HP, Jacquin MF, Rhoades RW (1990) Chapter ten: development of somatosensory system structures. En: *Development of sensory systems in mammals*, editado por JR Coleman, New York: John Wiley & Sons, pp:403-429.

Kolb B (1995) *Brain plasticity and behavior*. Mahwah: Lawrence Erlbaum Associates.

Kolb B (1999) Towards an ecology of cortical organization: experience and the changing brain. En: *Neuronal plasticity: building a bridge from the laboratory to the clinic* (Grafman J, Christen Y, eds.), pp: 17-34. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag.

Lee KJ, Woolsey TA (1975) A proportional relationship between peripheral innervation density and cortical neuron number in the somatosensory system of the mouse. *Brain Res* 99:349-353.

Micheva KD, Beaulieu C (1997) Development and plasticity of the inhibitory neocortical circuitry with an emphasis on the rodent barrel field cortex: a review. *Can J Physiol Pharmacol* 75:470-478.

McAllister K, Katz LC, Lo DC (1999) Neurotrophins and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 22:295-318.

Nedivi E (1999) Molecular analysis of developmental plasticity in neocortex. *J Neurobiol* 41(1): 135-147.

Nurse CA, Diamond J (1984) A fluorescent microscopic study of the development of rat touch domes and their Merkel cells. *Neurosci* 11(2):509-520.

Nurse CA, Faraway L (1988) Development of Merkel cell populations with contrasting sensitivities to neonatal deafferentation in the rat whisker pad. *Somatosens Mot Res* 6(2):141-162.

Nurse CA, Mearrow KM, Holmes M, Visheau B, Diamond J (1983) Merkel cell distribution in the epidermis as determined by quinacrine fluorescence. *Cell Tissue Res* 228:511-524.

Omnitech Electronics (s.f.) Disgiscan animal activity system model CCDIGI with Digipro software. Version 1.3, Columbus.

Pascual-Leone A, Hamilton R, Tormos JM, Keenan JP (1999) Neuroplasticity in the adjustment to blindness. En: *Neuronal plasticity: building a bridge from the laboratory to the clinic* (Grafman J, Christen Y, eds), pp: 93-108. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag.

Purves D, Riddle DR, White LE, Gutiérrez-Ospina G (1994) Neural activity and the development of somatic sensory system. *Curr Opin Neurobiol* 4:120-123.

Rauschecker, JP (1995) Compensatory plasticity and sensory substitution in the cerebral cortex. *TINS* 18 (1):36-43.

Rauschecker JP (1999) Auditory cortical plasticity and sensory substitution. En: *Neuronal plasticity: building a bridge from the laboratory to the clinic* (Grafman J, Christen Y, eds), pp: 53-63. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag.

Rauschecker JP, Korte M (1993) Auditory compensation for early blindness in cat cerebral cortex. *J Neurosci* 13:4538-4548.

Rauschecker JP, Tian B, Korte M, Egert W (1992) Crossmodal changes in the somatosensory vibrissa/barrel system of visually deprived animals. *Proc Natl Acad Sci* 89: 5063-5067.

Rice FL (1985) Gradual changes in the structure of the barrels during maturation of the primary somatosensory cortex in the rat. *J Comp Neurol* 236: 496-503.

Riddle D, Richards A, Zsuppan F, Purves D (1992) Growth of the rat somatic sensory cortex and its constituent parts during postnatal development. *J Neurosci* 12(9): 3509-3524.

Riddle D, Gutiérrez-Ospina G, Zheng D, White LE, Richards A, Purves D (1993) Differential metabolic and electrical activity in the somatic sensory cortex of juvenile and adult rats. *J Neurosci* 13(10): 4193-4231.

Salas M, Diaz S, Nieto A (1974) Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Res* 73: 139-144.

Silver MA, Stryker MP (2000) A method for measuring colocalization of presynaptic markers with anatomically labeled axons using double label immunofluorescence and confocal microscopy. *J Neurosci Methods* 94: 205-215.

Simons DJ, Land PW (1987) Early experience of tactile stimulation influences organization of somatic sensory cortex. *Nature* 326 (16): 694-697.

Sokoloff L (1999) Energetics of functional activation in neural tissues. *Neurochem Res* 24(2):321-329.

Toldi J, Fehér O, Wolff JR (1996) Neuronal plasticity induced by neonatal monocular (and binocular) enucleation. *Progress in Neurobiol* 48:191-218.

Van der Loos H, J Dörfl (1978) Does the skin tell the somatosensory cortex how to construct a map of the periphery? *Neurosci Lett* 7:23-30.

Wallace H, Fox K (1999) Local cortical interactions determine the form of cortical plasticity. *J Neurobiol* 41(1):58-63.

Weliky M (1999) Recording and manipulating the *in vivo* correlational structure of neuronal activity during visual cortical development. *J Neurobiol* 41(1): 25-32.

Welker E, Van der Loos H (1986) Is areal extent in sensory cerebral cortex determined by peripheral innervation density? *Exp Brain Res* 63: 650-654.

Williams RW, Herrup K (1988) The control of neuron number. *Ann Rev Neurosci* 11:423-53.

Wong-Riley MTT, Welt C (1980) Histochemical changes in cytochrome oxidase of cortical barrels after vibrissal removal in neonatal and adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 2333-2337.

Wong-Riley MTT (1989) Cytochrome oxidase: an endogenous metabolic marker for neuronal activity. *TINS* 12(3):94-101.

Woolsey TA, Wann JR (1976) Areal changes in mouse cortical barrels following vibrissal damage at different postnatal ages. *J Comp Neurol* 170: 53-66.

Woolsey TA (1990) Peripheral alterations and somatosensory development. En: *Development of sensory systems in mammals*, (Coleman JR ed), pp:461-516. New York: Wiley.

Yasargil GM, Macintyre L, Doucette R, Visheau B, Holmes M, Diamond J (1988) Axonal domains within shared touch domes in the rat: a comparison of their fate during conditions favoring collateral sprouting and following axonal regeneration. *J Comp Neurol* 270: 301-312.

Yuste R, Sur M (1999) Development and plasticity of the cerebral cortex: from molecules to maps. *J. Neurobiol* 41(1):1-6.

Zheng D, Purves D (1995) Effects of increased neural activity on brain growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 1802-1806.