

03062

1ej. 1

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
UNIDAD ACADEMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y DE POSGRADO
DEL COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES.

ORIGEN DEL PATRON CIRCADICO DE INGESTA DE AGUA
INDUCIDO POR TRANSPLANTES DE TEJIDO CEREBRAL FETAL,
EN RATAS CON LESION DEL NUCLEO SUPRAQUIASMATICO.

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN INVESTIGACION BIOMEDICA BASICA
AREA DE NEUROCIENCIAS.

PRESENTA EL M. C. RAUL ANTONIO AGUILAR ROBLERO.

TESIS CON
PALLA DE ORO

CIUDAD UNIVERSITARIA, D.F.
MEXICO, 1986.



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

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	iv
I. INTRODUCCION.....	1
A. El Núcleo Supraquiasmático y la Regulación de los Ritmos Circádicos en Mamíferos.	
Aspectos Históricos.....	1
Aspectos Morfológicos	
Localización y Morfología.....	5
Citoarquitectura.....	7
Conexiones Aferentes.....	9
Conexiones Eferentes.....	11
Ontogenia.....	12
Aspectos Funcionales	
El NSQ como Oscilador.....	14
Regulación de la Actividad del NSQ por sus Aferentes.....	19
Regulación de los Ritmos por el NSQ.....	22
Conclusiones.....	24
B. Transplantes de Tejido Nervioso	
Aspectos Históricos.....	25
Aspectos Metodológicos	
Colocación del Transplante.....	27
Edad del Donador.....	30
Edad del Receptor.....	30
Aspectos Inmunológicos.....	31
Aspectos Morfológicos	
Diferenciación y Citoarquitectura.....	33
Conexiones neuronales.....	35
Aspectos Funcionales	
Estudios Endocrinológicos.....	36
Estudios Neurológicos.....	38
Perspectivas.....	41
Conclusiones.....	44
C. Objetivos e Hipótesis.....	37

II. METODOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Sujetos.....	49
Condiciones Ambientales.....	49
Registros.....	49
Lesiones.....	50
Transplantes.....	50
Histología.....	52
Análisis y Estadística.....	52
Diseño Experimental.....	53

III. RESULTADOS

Sujetos Intactos.....	56
Efectos de la Lesión del NSQ.....	59
Transplantes de Hipotálamo Fetal al III V.....	63
Transplantes de Corteza Fetal al III V.....	70
Transplantes de Hipotálamo a la Corteza.....	75
Iluminación continua.....	79
Oscuridad continua.....	84

IV. DISCUSION..... 90

V. CONCLUSIONES..... 103

VI. REFERENCIAS..... 105

RESUMEN

En los últimos años se han acumulado datos sobre la importancia del Núcleo Supraquiasmático (NSQ) en la regulación de los ritmos circádicos en mamíferos. Con base en estudios conductuales en los que se ha lesionado dicho núcleo, así como en experimentos electrofisiológicos y de actividad metabólica se ha señalado al NSQ como un oscilador endógeno indispensable para la expresión de varios ritmos circádicos.

En 1971 se describió la posibilidad de transplantar precursores de neuronas al Sistema Nervioso Central (SNC) de ratas en desarrollo. Posteriormente se señaló que regiones maduras del SNC también podían recibir trasplantes de tejido nervioso en diferenciación. En los años siguientes el desarrollo de esta técnica permitió aplicarla al estudio de los ritmos circádicos.

En nuestro laboratorio nos interesamos por evaluar la capacidad del tejido nervioso fetal transplantado para inducir recuperación funcional. Se usó como modelo experimental, la pérdida del ritmo circádico de ingestión de agua inducida por lesión del NSQ en ratas adultas. Como resultado de estos estudios, reportamos que el trasplante de NSQ fetal es capaz de inducir recuperación del ritmo diurno de ingestión de agua.

Las observaciones anteriores nos plantearon básicamente dos preguntas: Es el fenómeno inducido por el trasplante un

ritmo circádico?; Pueden otras áreas además del NSQ fetal inducir dicho efecto? El presente trabajo tuvo como objetivo contestar dichas preguntas.

Los resultados obtenidos indican que: 1) Los trasplantes de NSQ fetal tienen dos efectos principales: a) Inducción de un ritmo diurno de la ingestión de agua y b) Inducción de un ritmo endógeno que persiste únicamente en condiciones de obscuridad constante; 2) Los trasplantes de la corteza occipital fetal son capaces de inducir el ritmo diurno mas no el ritmo endógeno. Estos resultados indican que solo el NSQ fetal transplantado es capaz de generar un ritmo circádico. El oscilador endógeno del trasplante hipotálamico es altamente susceptible a la influencia desorganizadora de la luz continua, y es probable que el ritmo diurno inducido por el trasplante cortical se deba a una reconexión funcional entre la retina y algun área hipotalámica que regule la expresión del ritmo observado.

I INTRODUCCION

A. NUCLEO SUPRAQUIASMATICO: UN OSCILADOR DEL SISTEMA CIRCADICO DE LOS MAMIFEROS.

ASPECTOS HISTORICOS

Las fluctuaciones periódicas en los parámetros fisiológicos parecen ser una de las propiedades de los seres vivos, ya que se observan desde los organismos unicelulares hasta el hombre (Bunning,, 1960; 1973). En los animales esta propiedad se manifiesta por patrones cíclicos de conducta. Cambios en el medio ambiente como el ciclo luz-obscuridad sincronizan estas oscilaciones de tal forma que la periodicidad de la mayoría de estos ciclos es cercana a las 24:00 hrs. Esta asociación a los ciclos de iluminación generó la creencia de que los ritmos biológicos dependían de esta influencia.

Estudios del Siglo XVIII realizados por Jean Jacques Ortus DeMairan, Duhamel DuManceau y Zinn demostraron que el ritmo de apertura y cierre de las hojas de una planta sensible (Probablemente la Mimosa Pudica) no dependían de influencias ambientales como la luz ó la obscuridad (Fig. 1). En el Siglo XIX Augustin de Candolle sugirió por primera vez el fenómeno de oscilación en corrimiento espontaneo (Free Run) en los movimientos de las hojas de la Mimosa Pudica. Posteriormente Wilhelm Pfeffer refutó y más tarde apoyó la hipótesis del origen endógeno del ritmo en dicha planta. Darwin expresó su creencia de que la ritmicidad diurna en el movimiento de las hojas era propiedad inherente de las

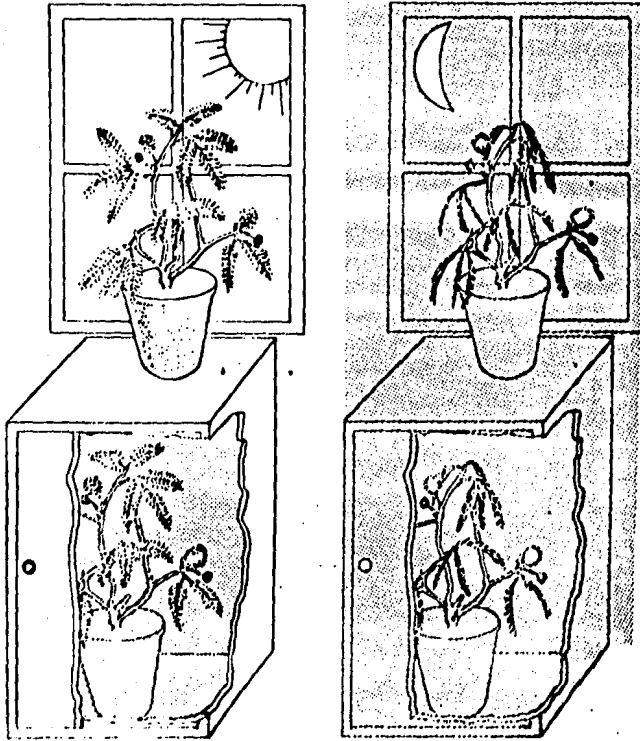


Figura 1. La Mimosa Púdica presenta un ritmo diurno en la apertura y cierre de sus hojas que coincide con el ciclo ambiental de Luz-Oscuridad. Cuando esta planta se aísla de la luz el ritmo en cuestión persiste. Con este experimento D'Marian demostró que el ritmo observado no dependía de la influencia de la luz y propuso su origen endógeno. (Tomada de Moore-Ede y Col., 1982).

plantas, pero no fue sino hasta este siglo que el origen endógeno de los ritmos biológicos fue aceptado por la comunidad científica.

Augusto Forel (1910) sugirió que las abejas poseían una memoria para el tiempo (Zeitgedachtnis). Belling (1929) demostró un sistema circádico endógeno en las abejas que podía ser sincronizado con estímulos ambientales cercanos a 24:00 hrs., Sin embargo estímulos presentados cada 19:00 ó 48:00 hrs no fueron capaces de sincronizar la conducta de las abejas. Renner (1955) demostró en forma definitiva que los ritmos circádicos en las abejas no dependían de señales de tiempo enmascaradas en los estímulos ambientales. En realidad, fue Bünning (1977) quién desarrolló las bases para el entendimiento de las propiedades de los ritmos circádicos, entre ellos su generalidad en los seres vivos y su dependencia de factores genéticos, y Pittendrigh (1960) quién contribuyó al entendimiento de la importancia de los relojes circádicos. Este último autor también demostró que los ritmos circádicos no son un fenómeno aprendido y desechó el uso del término Zeitgedachtnis por implicar un fenómeno de aprendizaje. Halberg acuñó el término circádico (del latín circa=cercano a y dies=día) para describir aquellos ritmos con un periodo cercano a las 24:00 hrs y que se generan en forma endógena por el organismo (Halberg, 1959).

William Ogle describió en 1886 el ritmo circádico de temperatura en el humano, el cual fue también descrito para el mono en 1906 por Simpson y Galbraith quienes sugirieron su naturaleza endógena. Sin embargo no fue sino hasta 1962 en

que Aschoff y Wever confirmaron el origen endógeno del Sistema Circádico en Humanos. Richter en 1922 realizó extensos estudios sobre el sistema circádico de mamíferos, pero no fue sino hacia los 60's en que se realizaron estudios acerca de su distribución y naturaleza endógena.

En vista de la amplia distribución de los ritmos circádicos en diversos parámetros biológicos y conductuales, Moore-Ede (1982) menciona que:

"...resultado aparente que con frecuencia era más significativo NO encontrar un ritmo circádico en una variable fisiológica que encontrarlo."

Ya que los mecanismos necesarios para lograr que una variable fisiológica sea constante en un organismo altamente rítmico requieren de estrategias fisiológicas complejas, las cuales involucran un delicado balance entre los diversos ritmos hasta alcanzar dicho efecto.

Los sustratos anatómicos involucrados en la regulación de los ritmos circádicos en mamíferos se han estudiado solo a partir de este siglo. Von Economo en 1929 y Nauta en 1946 son los primeros en implicar al hipotálamo en la regulación del ciclo vigilia-sueño, el cual es uno de los ritmos circádicos más evidente. Sin embargo, los primeros estudios dirigidos a identificar la localización anatómica del reloj biológico fueron los realizados por Richter en los 60's, quien demostró la participación del hipotálamo ventral anterior en dicha función (Richter, 1965; 1967).

En 1972 dos laboratorios independientes entre sí reportan que la lesión del NSQ interrumpe la ritmicidad

circádica en los niveles plasmáticos de corticosterona (Moore y Eichler, 1972) , a actividad locomotora y la ingestión de agua (Stephan y Zucker, 1972). Desde entonces, diferentes estudios han reportado que las lesiones de dicho núcleo eliminan los ritmos circádicos de varios parámetros fisiológicos y conductuales (Moore, 1981; Moore, 1983).

ASPECTOS MORFOLÓGICOS

Localización y Morfología. El Núcleo Supraquiasmático (NSQ) es una estructura bilateral formada por dos grupos compactos de neuronas localizadas en el hipotálamo ventral anterior. Su polo rostral se encuentra dorsomedial al Quiasma Óptico (QO) y se extiende en la misma posición hasta la Comisura Supraóptica (CSO). (Van Den Pol, 1980). A pesar de su localización constante en el cerebro de diferentes mamíferos, su relación con el QO y principalmente el III Ventricúlos (III V) se modifica ligeramente de acuerdo con la especie (Van Den Pol, 1980; Lydic y col., 1980b; Lydic y Moore-Ede, 1980; Lydic y col., 1982). Además de su denominación actual acuñada por Spiegel y Zweig en 1919, el NSQ ha recibido otros 11 nombres, lo que ha generado confusión en la nomenclatura y controversia respecto a su existencia en diferentes especies incluyendo al hombre (Moore-Ede y col., 1982; Lydic y col., 1980b).

En la mayoría de las especies el NSQ se identifica fácilmente por la densidad y tamaño de las células que lo forman, las cuales resaltan entre las neuronas de mayor tamaño y que están agrupadas en forma menos compacta que caracterizan al hipotálamo circundante (Figura 2).



Figura 2. Cortes coronales del cerebro de la rata las flechas indican la localización del Nucleo Supraquiasmático (NSQ), se observa la relación del núcleo con el quiasma óptico (CO), el hipotálamo anterior (HA) y el III ventrículo (V).

Citoarquitectura. En la rata, cada NSQ consta de 8,000 a 10,000 neuronas, cuyo tamaño varía de 5 a 15 μM de diámetro (Van Den Pol, 1980; Guldner, 1976). Estas células se encuentran entre las más pequeñas del Sistema Nervioso.

Estudios iniciales mencionaban al NSQ como un grupo homogéneo de neuronas (Krieg, 1932). Sin embargo, recientemente se han demostrado por lo menos dos poblaciones de neuronas localizadas una en la región rostromedial y otra en la ventrolateral del núcleo (Van Den Pol, 1980).

Las células de la región dorsomedial se caracterizan por ser pequeñas, empaçadas densamente y mezcladas con astroglia. La arborización dendrítica de estas células es restringida (Riley y Moore, 1977). A nivel de ultraestructura se observa un citoplasma escaso en organelos, y abundantes contactos soma-somáticas. (Van Den Pol, 1980), si bien estas últimas no se han confirmado en otros estudios (Riley y Moore, 1980). Estas células forman cadenas orientadas en dirección antero-posterior (Van Den Pol, 1980).

La región ventrolateral se caracteriza por neuronas de mayor tamaño con un citoplasma rico en organelos, núcleo con abundantes invaginaciones en su membrana y nucléolo central (Van Den Pol, 1980). La arborización dendrítica de estas neuronas es mucho más extensa que la de la región dorsomedial (Riley y Moore, 1977). Aferentes visuales de la retina y el cuerpo geniculado llegan a esta región (Moore y Lenn, 1972; Card y Moore, 1982).

El campo dendrítico de las células del NSQ es más pequeño que el de otras áreas del hipotálamo y presentan las

diferencias regionales mencionadas anteriormente (Krieg, 1932; Riley y Moore, 1977; Van Den Pol, 1980). En base a su morfología, estas neuronas se han clasificado en 5 tipos: a) Monopolares; b) Bipolares simples; c) Bipolares complejas; d) Espinosas; y e) Multipolares radiadas (Van Den Pol, 1980). Los contactos sinápticos que reciben las dendritas que se localizan en el NSQ se originan de 2 tipos de axones (Guldner y Wolff, 1974), la mayoría de estos probablemente provienen de proyecciones locales (Van Den Pol, 1980). Contactos dendrodendríticos se han descrito y confirmado (Guldner y Wolff, 1974; Guldner y Wolff, 1978; Van Den Pol, 1980).

Los axones que se observan en el NSQ son cortos, finos y no mielinizados, la mayoría de ellos con origen y terminación dentro del mismo núcleo. Frecuentemente se observan formando fascículos en los que se entremezclan con algunos axones mielinizados. Los fascículos salen del núcleo en dirección dorsal ó en dirección caudal, mientras que las fibras que llegan a él lo hacen de todas direcciones. Axones mielinizados de gran diámetro se observan, generalmente, cruzando el núcleo sin hacer contacto con él (Van Den Pol, 1980).

El elemento glial más común en el NSQ es la astroglia. Estas células tienen aproximadamente el mismo tamaño que las neuronas, con prolongaciones múltiples que se bifurcan varias veces. Dichas prolongaciones, al igual que en el resto del Sistema Nervioso, hacen contactos con los vasos cercanos. Su función no ha sido aclarada (Van Den Pol, 1980).

Conexiones Aferentes. El NSQ recibe proyecciones del sistema visual, el sistema límbico, el hipotálamo y el tallo cerebral (Figura 3).

El sistema visual proyecta al NSQ desde la retina (Moore y Lenn, 1972; Hendrickson y Cols., 1972), la porción ventral del cuerpo geniculado lateral (Swanson y col., 1974; Ribak y Peters, 1975; Pickard, 1982). El sistema límbico proyecta desde el núcleo septal medial (Garris, 1979) y del subiculum anteroventral a través del tracto cortico hipotalámico (Meibach y Siegel, 1977). Las aferentes hipotalámicas se originan del área preóptica (Swanson, 1976), del núcleo ventromedial, del núcleo arcuato (Meibach y Siegel, 1977; Zaborszky y Makura, 1979), y del área hipotalámica tuberal (Saper y Cols., 1976). Las proyecciones del tallo cerebral al NSQ, se originan principalmente en el núcleo dorsal del complejo del rafe (Fuxe, 1965; Aghajanian, y col., 1969).

Debido a su relevancia en la regulación de la actividad del NSQ, la vía retino-hipotalámica ha sido la aferencia más estudiada de dicho núcleo. Ha sido estudiada por autoradiografía (Moore y Lenn, 1972), microscopía electrónica (Hendrickson y col., 1972) y electrofisiología (Sawaki, 1977). Fibras originadas en la retina proyectan bilateralmente, con un componente contralateral muy importante (Moore y Lenn. 1972). Esta vía se presenta en todos los mamíferos que han sido estudiados (Moore, 1973; Colman y col., 1976; Thorpe, 1975).

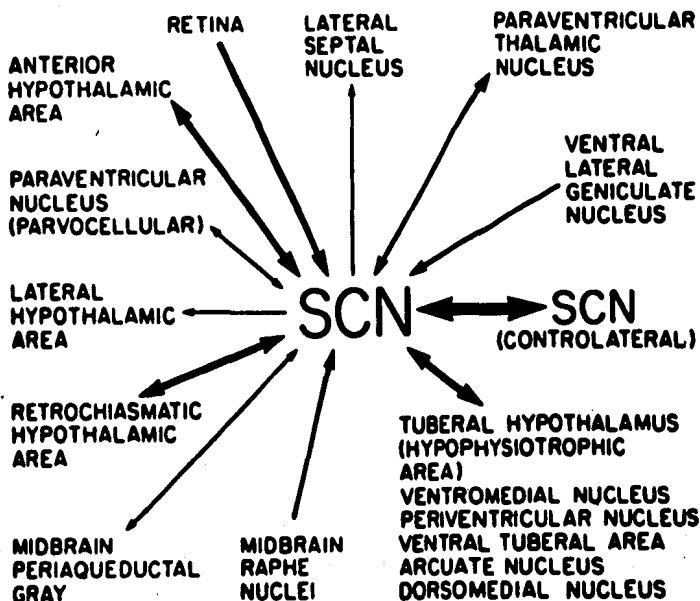


Figura 3. Esquema en el que se indican las conexiones del NSQ con otras áreas del Sistema Nervioso Central. Las flechas indican la dirección de las fibras, el grosor de las flechas indican la proporción relativa de las fibras en las distintas vías. Como puede observarse la mayor parte de las vías son bidireccionales, con excepción de las aferencias de la Retina, el Genuculado Lateral y el Rafe y las eferencias al Septum Lateral y el Hipotálamo Lateral. Resulta interesante que la mayor parte de las conexiones se realizan hacia otros núcleos del hipotálamo (Tomado de Moore , 1983).

Conexiones Eferentes. Las fibras del NSQ proyectan hacia el sistema límbico, diencefalo y tallo cerebral (Figura 3). Como se mencionó previamente, los axones que dejan el núcleo lo hacen principalmente en 2 direcciones. Dorsorostral y caudal.

Las eferentes hacia el sistema límbico se conectan con los núcleos septales medial y lateral (Sofroniew y Weindl, 1978; Bojis, 1978), el órgano vasculoso de la lámina terminalis (Bojis, 1978; Campbell y Ramaley, 1974) y el núcleo del tracto diagonal de Broca (Sofroniew y Weindl, 1978). Las proyecciones hacia el Diencefalo llegan a los núcleos periventriculares del tálamo (Berk y Finkelstein, 1981) y la Habenula lateral (Sofroniew y Weindl, 1978). En el hipotálamo el NSQ proyecta al núcleo paraventricular (Sims y col., 1980) principalmente a su región dorsal (Berk y Finkelstein, 1981; Stopa y col., 1984), a los núcleos dorsomedial y ventromedial, a el núcleo periventricular parvocelular (Swanson y Cowan, 1975; Sims y col., 1980; Berk y Finkelstein, 1981; Hoorneman y Bojis, 1982), a el área preóptica medial (Sims y col., 1980), a el núcleo arcuato, a la región tuberal lateral (Swanson y Cowan, 1975) y a el núcleo premamilar (Sims y col., 1980). Se han descrito también algunas proyecciones hacia la región hipotalámica posterior (Berk y Finkelstein, 1981; Sofroniew y Weindl, 1978) y la lámina interna de la eminencia media (Swanson y Cowan, 1975; Sims y col., 1980). La proyección hacia el NSQ contralateral es una de las conexiones más importantes del núcleo (Pickard, 1982). Las proyecciones hacia el tallo

cerebral llegan hacia la sustancia gris periacueductal mesencefálica (Berk y Finkestein, 1981).

Se han reportado proyecciones hacia el núcleo dorsomedial del tálamo, el núcleo interpeduncular, el núcleo motor dorsal del vago y el núcleo del tracto solitario (Sofroniew y Weindl, 1978). Otros grupos sin embargo, han puesto en duda estas proyecciones, arguyendo que no existe verificación de estas por otros laboratorios y que el criterio inmunocitoquímico empleado no es suficiente para proponerlos (Berk y Finkelstein, 1981; Swanson y Cowan, 1974).

Ontogenia. En la rata, estudios autorradiográficos señalan que las células del NSQ se desarrollan entre los días 13 y 17 de gestación (Figura 4). Las células aparecen en secuencia rostro-caudal en cortes horizontales y en secuencia ventrolateral-dorsomedial en cortes coronales (Altman y Bayer, 1978). El tracto retino hipotalámico se desarrolla postnatalmente. Estudios autorradiográficos y con cobalto indican que esta proyección aparece a partir del 3er. a 4o. día después del nacimiento (Felong, 1976; Leen y col., 1977). Las técnicas de degeneración indican, sin embargo, que la vía aparece hasta los 17 a 20 días postnatales (Campbell y Ramaley, 1974). Estas observaciones podrían deberse a las diferencias en la resolución de las técnicas. Estudios con microscopio electrónico indican que la diversificación sináptica en el NSQ ocurre entre los 4 y 7 días de edad (Leen y col., 1977).

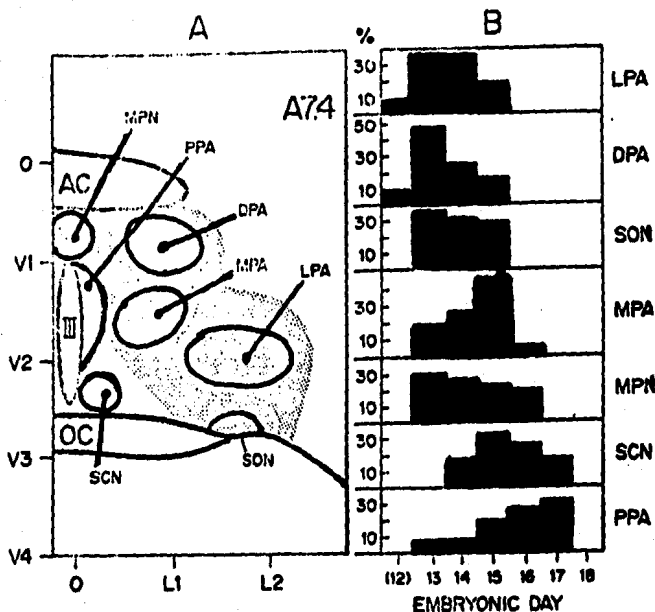


Figura 4. A: Esquema de un corte coronal del cerebro de feto de rata donde se ilustra la localización de algunos núcleos del hipotálamo anterior. B: Histogramas de frecuencia de la actividad mitótica algunas áreas del hipotálamo anterior (determinada por autorradiografía de ácidos nucleicos) en función de la edad de gestación. Con este parámetro se puede estimar el momento de la gestación en el cual se diferencian estos núcleos. El Nucleo Supraquiasmático (SCN) se comienza a diferenciar en el día 13 y esto se completa hacia el día 18. Otras abreviaturas Area Preóptica Lateral (LPA), Dorsal (DPA), Medial (MPA), Paraventricular (PPA), Nucleo Supraóptico (SON), Nucleo Periventricular Medial (MPN). (Tomado de Altman y Bayer, 1978).

ASPECTOS FUNCIONALES

En la evaluación de la función de NSQ en la regulación de la ritmicidad circádica es necesario plantearse las siguientes preguntas: I) Es el NSQ un oscilador endógeno? II) Hay además del NSQ otros osciladores endógenos? III) Como regulan sus aferentes la función del NSQ? y IV) Cómo regularía el NSQ la ritmicidad circádica?

El NSQ como oscilador. La evidencia que apoya la idea que el NSQ contiene un oscilador endógeno puede agruparse en: a) Estudios de lesión y estimulación; b) Estudios electrofisiológicos; y c) Estudios metabólicos.

a) Las lesiones bilaterales del NSQ interrumpen el ritmo circádico de varios parámetros conductuales y fisiológicos en todas las especies estudiadas (Reppert y col., 1981 Albers y col., 1981, 1984b). Se ha demostrado que solo las lesiones totales del NSQ y no de otros núcleos hipotalámicos tienen dicho efecto (Van Den Pol y Powel, 1979) (Tabla I). En ratas, la interrupción del patrón temporal del ciclo sueño vigilia no afecta el mecanismo involucrado en su generación (Tobler y col., 1983), lo cual sugiere que dichos procesos son regulados por mecanismos independientes. La arritmicidad en la ingestión de agua y la conducta motora, inducida por lesión del NSQ en ratas recién nacidas, no presenta recuperación espontánea durante el resto de la vida del animal (Mosko y Moore, 1978), lo cual señala el papel crucial del NSQ en la regulación de dichos ritmos. La estimulación eléctrica del NSQ en ratas y Crisetas induce cambios de fase y cambios en el periodo del ritmo de ingestión de alimentos

en oscilación espontanea (Rusak y Groos, 1982).

TABLA I. EFECTO DE LA LESION DEL NSQ SOBRE
LOS RITMOS CIRCADICOS

ANIMAL	RITMO(S)	EFEECTO	DIAS POST-LESION
Rata	Actividad Ing. Agua	abolición	120
"	Corticosterona adrenal	abolición	21
"	N-Acetiltrans. en Pineal	abolición	21
"	ciclo Vigilia Sueño.	abolición	100
"	Ciclo Estral Ovulación.	abolición	100
"	Actividad Alimentación Otros.	abolición	180
Hamster	Actividad.	abolición	120

(Modificada de Moore, 1981).

b) Estudios electrofisiológicos. Las células del NSQ registradas "in situ" ó "in vitro" descargan con una frecuencia que varía entre 3 y 8 espigas por segundo (Nishino y col., 1976; Shibata y col., 1982; 1984; Green y Gillete, 1982). De acuerdo a sus patrones de descarga se pueden clasificar en tres grupos (Shibata y col., 1984): Células tipo I tienen un patrón regular de descarga con intervalo interespigas constante (Gross y Hendricks, 1974; Thomson y col., 1984), frecuencia de 6.3 ± 3.1 espigas por segundo, y corresponden al 80% de las neuronas registradas; las células

del tipo II tienen un patrón de disparo irregular, representan cerca del 19% de las neuronas registradas; las células tipo III tienen un patrón de descarga en ráfagas mezcladas con periodos silentes. Estas representan el 1% de las neuronas registradas (Shibata y col., 1982).

Se han descrito diferencias regionales en la frecuencia de disparo de las neuronas del NSQ, en la región ventrolateral se observa mayor frecuencia del disparo que en la dorsomedial (Shibata y col., 1984). Es importante señalar que el patrón de disparo de las células de tipo I es muy similar al de una población ideal de células marcapaso.

Registros de actividad eléctrica unitaria en rebanadas hipotálamicas de cerebro de rata indican que la actividad de las células del NSQ presenta un ritmo diurno, en fase con el ciclo luz-obscuridad en el que se mantuvo a la rata antes del registro (Green y Gillete, 1982; Shibata y col., 1982).

La actividad multiunitaria del NSQ "in situ" presenta un ritmo circádico, el cual persiste aún cuando se haya aislado dicho núcleo del resto del cerebro (Inouye y Kawamura, 1979). La frecuencia máxima de disparo de estas células (al igual que el de los registrados en rebanadas) se observa durante la fase de luz del ciclo luz-obscuridad (Figura 5). El ritmo en la actividad multiunitaria presenta un corrimiento espontáneo cuando se mantiene al sujeto en iluminación constante. Cuando se cortan todas las aferencias al NSQ con excepción del tracto retino hipotalámico, el ritmo en la actividad multiunitaria del NSQ sigue cambios de fase en el ciclo luz-obscuridad (Inouye y Kawamura, 1982).

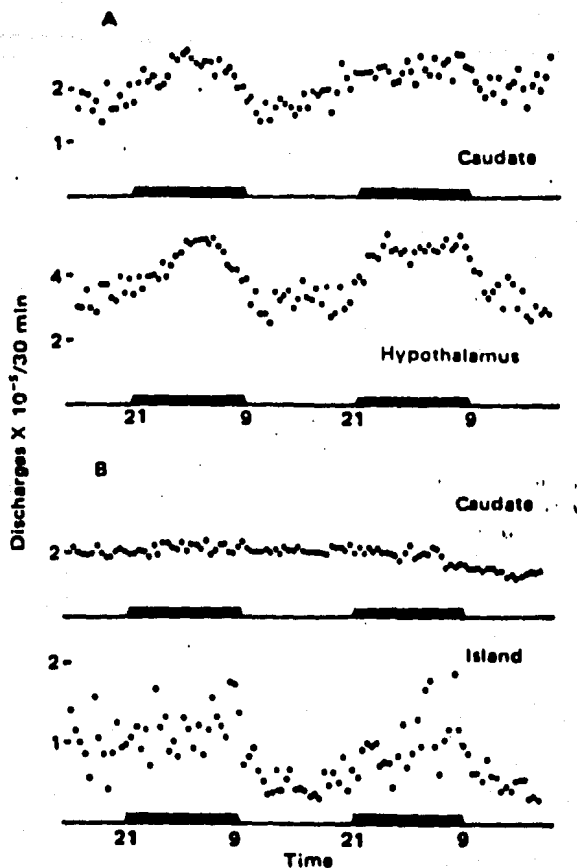


Figura 5. Registro simultaneo de la actividad electrica multiunitaria (MUA) en el nucleo Caudado y el Hipotálamo de un sujeto normal (A), en el cual se observa la oscilación ciclica de la frecuencia de MUA en ambos nucleos. Cuando se aísla el Hipotálamo anterior del resto del cerebro mediante un corte (B), el ritmo persiste dentro de la isla hipotalámica que contiene el NSQ pero no fuera de ella. Este experimento demuestra que no son necesarias las conexiones nerviosas del NSQ para generar el ritmo de la actividad electrica. (Tomado de Inouye y Kawamura, 1979).

c) Actividad metabólica. La captación de la 2-deoxiglucosa (2-DG) puede usarse como un marcador confiable de la actividad metabólica del NSQ (Schwartz y Gainer, 1977). La rata presenta mayor captación de 2-DG durante la fase de luz del ciclo luz-obscuridad. El ritmo de captación de 2-DG sigue cambios de fase de 180° en el patrón de iluminación y persiste en obscuridad continua o cuando el animal ha sido enucleado. En luz continua, sin embargo, presenta abolición del ritmo 10 días después de iniciarse esta condición (Schwartz y col., 1980). El ritmo en la actividad metabólica del NSQ también ha sido reportado en Crisetos (Flood y Gibbs, 1982), Mono araña, gato y ardillas (Schwartz y col., 1983). En todos estos animales excepto en la ardilla, la mayor actividad metabólica se observa durante la fase de la luz (Flood y Gibbs, 1982). El ritmo de actividad metabólica se desarrolla en el período prenatal en ratas y monos. La sincronización del "reloj fetal" se realiza através del sistema circádico materno (Reppert y Schwartz, 1983; 1984a; 1984b).

Estos datos en conjunto indican que el NSQ puede generar una oscilación circádica sin necesidad de señales hormonales o neuronales ajenas al mismo núcleo. Dicha oscilación se sincroniza por influencias del ciclo luz-obscuridad a través de la vía retino-hipotalámica. El NSQ es indispensable para la expresión de varios ritmos, y es capaz de imponerles periodo y fase. Esto sugiere que el NSQ es un oscilador muy importante del sistema circádico de los mamíferos.

Regulación del NSQ por sus aferentes. De las aferencias descritas al NSQ, sólo se ha reportado que tengan efectos en los ritmos circádicos aquellos que se originan en la retina, el cuerpo geniculado lateral y el subiculum (Block y Zucker, 1976; Rietveld y Gross, 1981). No obstante, no existen estudios suficientes para descartar la participación del resto de las aferencias en la regulación de la actividad del NSQ. La función reguladora de las áreas mencionadas parece consistir en: a) Sincronización de la oscilación del NSQ al ciclo luz-obscuridad; y b) Regulación de la actividad del oscilador del NSQ (Figura 6). La evidencia que apoya estos planteamientos es:

a) La enucleación bilateral o el corte de ambos nervios ópticos induce oscilación espontánea de diversos ritmos circádicos en varias especies estudiadas (Moore-Ede, 1983). Se inducen efectos similares al mantener al sujeto en obscuridad continua, en este caso, el periodo de la oscilación espontánea depende del ciclo de luz-obscuridad previo (Bünning, 1960; 1973). Por otra parte, la iluminación continua atenúa o desorganiza los ritmos circádicos en algunos animales (Honma e Hiroshigne, 1978b; Eastman y Richtshaffen, 1983; Aschoff, 1979). Esta manipulación puede conducir también, a la disociación de los ritmos circádicos en varios componentes ultradianos, es decir con un periodo de oscilación mayor de 24.00 hrs (Pittendrigh, 1960; Pittendrigh y Dann, 1976; Pickard y Turek, 1982; Hofman, 1971). Además, se ha observado que la luz continua inhibe la actividad metabólica y eléctrica en el NSQ (Schwartz y Gainer, 1977;

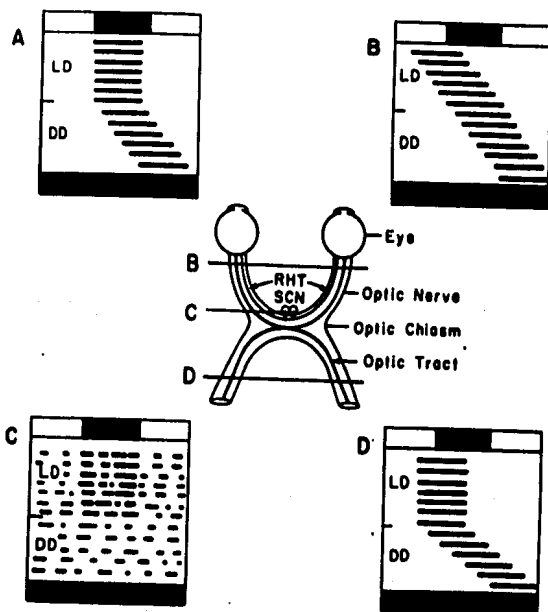


Figura 5. Participación de distintos niveles de la vía visual en la regulación de los ritmos circádicos por el ciclo Luz-Obscuridad. A: Bajo el ciclo de Luz-Obscuridad (LD) los ritmos del sujeto normal se sincronizan con el ciclo de iluminación. En oscuridad constante (DD) se presenta corrimiento libre del ritmo circádico. B: La enucleación bilateral o la sección de ambos nervios ópticos inducen corrimiento libre del ritmo aún en Luz-Obscuridad, ya que la información luminosa no llega al Sistema Nervioso. C: La lesión del NSQ abole el ritmo circádico tanto en LD como en DD. D: La lesión bilateral del tracto óptico no impide que el ritmo se sincronice en LD, sin embargo modifica la relación de fase entre el ritmo y el ciclo de iluminación. Estas lesiones no afectan el comportamiento del ritmo en DD. (Tomado de Moore-Ede y Col., 1982).

Schwartz y Col., 1980; Shibata y Col., 1984), y afecta el desarrollo de los diversos tipos celulares descritos en el NSQ en base a criterios electrofisiológicos (Shibata y col., 1984).

b) La enucleación unilateral (en Crisetos) retarda el cambio de fase inducido por cambios de fase del ciclo luz y oscuridad. Lesiones del cuerpo geniculado lateral ventral tienen efectos similares (Zucker y col., 1976; Harrington y Russak, 1985).

c) La ablación del fornix induce efectos similares a los de la luz continua, ya que provoca disociación entre los ritmos de temperatura y los de actividad locomotora de ingestión de agua (Eastman y Reichschafen, 1983; Fishette y col., 1981) y desorganizan el ritmo de cortisol plasmático (Fishette y col. 1981).

Estos datos sugieren que la vía retino-hipotalámica es la responsable de la sincronización de los ritmos circádicos y del ciclo luz-oscuridad. Además, indican que el componente bilateral de esta proyección y la vía geniculado - NSQ son importantes para regular los ajustes de fase de los ritmos circádicos con el ciclo luz-oscuridad. Por otra parte, señalan que la luz continua tiene un efecto inhibitor sobre el desarrollo del NSQ y en el animal maduro induce de alguna forma el desacoplamiento del sistema circádico. Influencias del subiculus a través del fornix, parecen estabilizar la actividad de NSQ.

Regulación de los ritmos circádicos por el NSQ. Si bien los trabajos mencionados anteriormente indican la importancia del NSQ en la expresión de los ritmos circádicos, poco es lo que se sabe acerca de los mecanismos por los cuales el NSQ ejerce dichos efectos. En términos generales se cree que NSQ se acopla a través de conexiones nerviosas con los sistemas efectores que expresan ritmicidad circádica. Los datos disponibles señalan que las salidas caudales del núcleo son indispensables para la expresión de algunos ritmos circádicos (Moore y Eichler, 1972; Moore y Klein, 1974). Es posible que exista una estructura intermedia entre el NSQ y los efectores del sistema. En el animal intacto diferentes ritmos guardan relaciones de fase constantes entre sí, las relaciones persisten aún cuando los ritmos circádicos se han descompuesto en componentes ultradianos por iluminación continua (Honma e Hiroshige, 1978b), y aún después de lesiones del NSQ (Watanabe e Hiroshige, 1981). No se conoce sin embargo, cuál pudiera ser la estructura intermedia entre el NSQ y los efectores.

Las sustancias neuroactivas involucradas en la regulación de los ritmos circádicos se desconocen aún. Sin embargo, existen algunos estudios que enfocan este problema.

La inyección intracerebral en el NSQ de diversos neurotransmisores putativos ha sido ineficaz para afectar los ritmos circádicos, a excepción del carbacol. Este mimetiza el efecto de la luz sobre el ritmo circádico de actividad de N-acetil transferasa en ratas (Zatz y Brownstein, 1979), y la

sincronización del ciclo de reproducción (Earnest y Turek, 1983). Además el carbacol induce avances y retrasos de fase en el ritmo de locomoción en ratones (Zatz y Herkenham, 1981).

La microinyección al III Ventrículo del polipéptido pancreático de Aves y el neuropéptido Y inducen cambios de fase en la actividad locomotora del Hamster durante la oscilación espontánea inducida por iluminación constante. Dicho efecto consistió en un avance o un retraso de fase dependiendo del tiempo circádico de inyección (Albers y col., 1984a; Albers y Ferris, 1984). Estudios inmunocitoquímicos indican que la vía geniculado-NSQ contiene fibras de neuropéptido Y (Moore y col., 1984). Estos resultados concuerdan con los efectos descritos sobre la lesión de cuerpo geniculado lateral (Ver sección anterior).

El ácido gama amino butírico (GABA) pudiera estar involucrado en el retraso de fase inducido por pulsos de luz en la rata. Ya que la inyección intraperitoneal de bicuculina bloquea este fenómeno en forma dosis dependiente (Ralph y Menaker, 1985).

La melatonina administrada intraperitonealmente puede sincronizar la oscilación espontánea del ritmo de locomoción inducida por obscuridad constante. Este efecto solo puede ser inducido cuando el momento de la inyección coincide con el inicio de la fase de actividad (Redman y col., 1983).

CONCLUSIONES

Resulta evidente que la regulación de los ritmos circádicos en mamíferos dista mucho de ser comprendida. Aunque la evidencia sobre el papel del NSQ en dicho proceso es abundante no es concluyente. Por otra parte, no se han identificado otras áreas en el cerebro del mamífero con un papel tan importante para la expresión de los ritmos circádicos además del NSQ (Moore, 1983). El acoplamiento entre el NSQ (considerándolo como un oscilador circádico) y los sistemas efectores de este sistema se desconoce. Las sustancias neuroquímicas involucradas en la sincronización del oscilador a los efectores también se desconocen.

II TRANSPLANTES DE TEJIDO NERVIOSO

ASPECTOS HISTORICOS

Los primeros intentos de transplantar tejido nervioso del SNC de mamífero se remontan a finales del siglo pasado. Thompson (1890) y Saltykow (1905) son probablemente los primeros en reportar el transplante de tejido del SNC adulto. Del Conte (1907) fue el primero en intentar el transplante de tejido embrionario al cerebro de mamífero. Marinesco y Minea (1907) y Ranson (1914) los primeros en transplantar tejido nervioso ganglionar al SNC de mamíferos. En general los resultados de estos estudios tuvieron poco éxito. Del Conte llegó a la conclusión que el cerebro era un sitio desfavorable para recibir transplantes. Otros reportes con resultados negativos fueron publicados por Altobelli (1914), Willis (1935), Gleen (1955) y Wenzel y Barlhier (1969). Sin embargo, algunos investigadores tuvieron resultados exitosos, por ejemplo Ranson en 1914 y Tidd en 1932 observaron que algunas de las células de ganglios sensoriales transplantados a la corteza cerebral de ratas en desarrollo sobrevivían. Dunn en 1917 reportó la viabilidad de las células de la corteza cerebral de ratas recién nacidas transplantadas a la corteza de ratas con 9 a 10 días de edad. Uno de los estudios más interesantes de esta época es el realizado por LeGros Clark en 1940, en donde se describe el excelente índice de supervivencia y la posterior diferenciación de células embrionarias de la neocorteza transplantadas a la

corteza de un conejo de seis semanas de edad. Sorprendentemente este hallazgo pasó desapercibido por investigadores que trabajaban en este problema durante esos años y los intentos de realizar los trasplantes fueron esporádicos y sin éxito.

En 1930 el mexicano Raúl May reportó que el tejido cerebral de neonatos sobrevivió el transplante a la cámara anterior del ojo. A partir de 1945 publicó una serie de artículos referentes al transplante intraocular de dos áreas de tejido cerebral, y de una pieza de tejido cerebral y una muscular donde describió el proceso de reinervación. Asimismo, estudió la posible existencia de factores tróficos que indujeran la reinervación observada. Sus resultados indican una tendencia endógena de los trasplantes para enviar sus fibras. Sin embargo, en base a los conocimientos actuales algunas observaciones son difíciles de explicar (May, 1945; 1949; 1952; 1954; 1955; 1957 y 1962). Tan importante fue la contribución de este mexicano a esta área de estudio que en palabras de Gash (1984):

"De hecho, ninguna revisión acerca de trasplantes de tejido nervioso puede estar completa sin la discusión de las contribuciones de May"

No fue sino hasta la pasada década en que la posibilidad de transplantar tejido nervioso al SNC de mamíferos fue reevaluada. Olson y Malmfors en 1970 reportaron la viabilidad de células de ganglios sensoriales transplantados al SNC adulto. 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 dos semanas. Posteriormente Lund y Hauschka (1976) observaron que regiones relativamente maduras del SNC podían también recibir trasplantes de tejido nervioso en diferenciación. Das y Hallas (1978) extendieron estas observaciones y reportaron que el SNC adulto también es capaz de recibir los trasplantes, pues éstos crecen, se diferencian y establecen conexiones anatómicas con el cerebro del sujeto receptor. Stenevi y Bjorklund (1976) estudiaron en forma sistemática la reproducibilidad y las condiciones de supervivencia de los trasplantes.

Estos trabajos marcan una nueva etapa en los estudios acerca de los trasplantes de tejido nervioso, ya que aumenta el número de laboratorios en el mundo que estudian este problema, tanto por sus implicaciones en las ciencias básicas como por sus probables aplicaciones futuras.

ASPECTOS METODOLÓGICOS

La supervivencia, desarrollo y diferenciación de los trasplantes del SNC de mamífero dependen principalmente de tres factores, estos son: 1) Colocación del trasplante; 2) Edad del sujeto donador; y 3) Edad del sujeto receptor (Das, y col., 1980).

1) Colocación del trasplante. La rápida y eficiente vascularización del trasplante es el principal requisito para su supervivencia (Figura 7). Esta condición puede

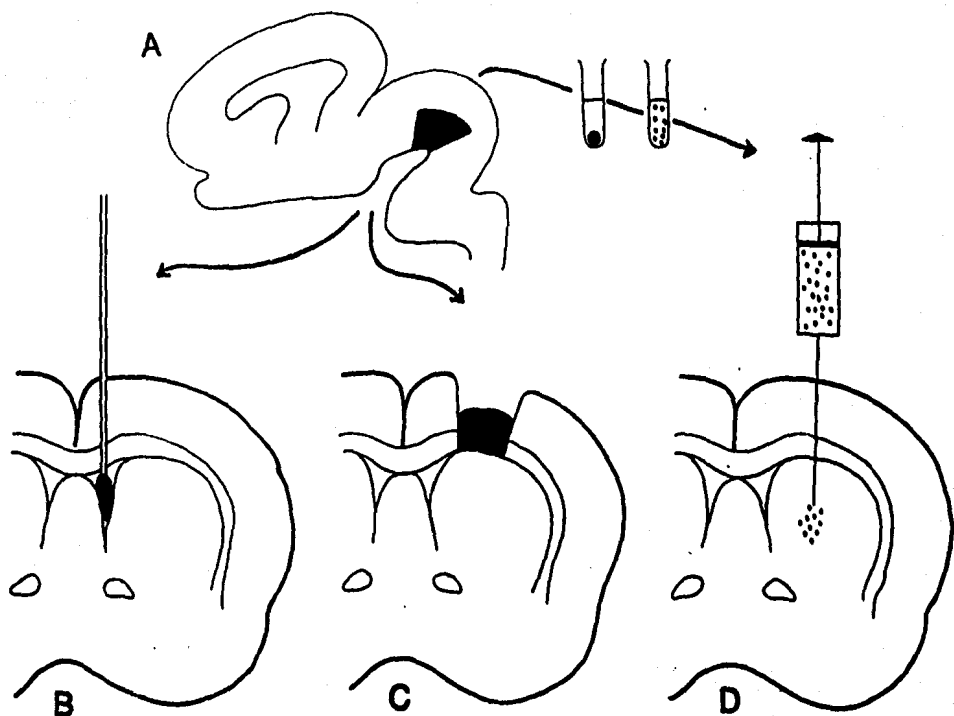


Figura 7. Sitios de colocación de trasplantes de tejido cerebral. A: El tejido a trasplantar se obtiene de fetos desde 15 días de gestación en adelante, algunas áreas sobreviven al trasplante aún cuando se tomen de sujetos hasta de 5 días de edad postnatal. El bloque de tejido puede inyectarse a través de una canula a la luz de los ventriculos cerebrales (B), ó directamente a una cavidad preparada en la superficie cortical (C). Si se disocian las células neurales por tripsinización, estas pueden inyectarse al parenquima cerebral con ayuda de una microjeringa. El objetivo de estos procedimientos es el garantizar la adecuada nutrición del trasplante hasta que se formen conexiones vasculares con el receptor. (Tomado de Bjorklund y Stenevi, 1982).

asegurarse ya sea colocando el trasplante en una cavidad en contacto con los plexos coroideos (Steveni y col, 1976), en una cavidad en la que se ha inducido una capa vascular por proliferación de la pia (Bjorklund y Steveni 1979) ó en el interior de los ventriculos cerebrales donde se nutre a partir del líquido cefalorraquideo (Perlow y col, 1979). En este caso se ha observado que la invasión vascular del trasplante ocurre dentro de los 3 días siguientes al trasplante, y en este estudio en particular (trasplante al III ventrículo) los vasos se originaban de los capilares portales de la eminencia media del sujeto receptor (Scott, 1984). Las técnicas anteriores han demostrado su utilidad cuando el tejido se transplanta en forma de bloque. La principal desventaja de las dos primeras técnicas es que es necesario aspirar el parenquima cerebral, por lo que solo puede utilizarse en regiones superficiales del cerebro. Cuando se tranplanta a las cavidades ventriculares el tejido sobrevive, pero su crecimiento se ve limitado. En estos casos conexiones extensas con el cerebro del sujeto receptor solo se logran cuando se daña el ependimo y así el trasplante puede fusionarse con el tejido adyacente. También es posible transplantar una suspensión de células disociadas y en este caso puede realizarse el trasplante hacia las regiones profundas del cerebro. La colocación de las células en un área específica es muy precisa, y la destrucción del cerebro receptor es mínima. Además no es necesaria la presencia de un lecho vascular abundante, y se puede determinar acertadamente el número de células transplantadas

(Bjorklund y col, 1980; Schmidt y Col., 1981).

2. Edad del Sujeto Donador. El crecimiento y diferenciación de las células del transplante dependen de la edad de sujeto donador. Tejido obtenido de ratas de 15 días de gestación muestra mayor crecimiento después de transplantado, que cuando el tejido se obtiene de ratas de 21 días. Esto puede deberse a que a los 15 días de gestación el tejido se compone principalmente de células neuroepiteliales que continúan proliferando después del transplante. A los 18 días, el tejido está formado principalmente por neuroblastos que después del transplante se diferencian sin proliferar (Das y col, 1980; Kromer y col, 1983). Lo anterior se refiere en general, sin embargo es necesario considerar que no todas las áreas del SNC en desarrollo maduran simultáneamente. Por lo tanto, junto con la edad gestacional es importante considerar el nivel de maduración del área que nos interesa estudiar. Cuando se emplea la técnica de suspensión de células, la edad del donador es un factor muy importante en la supervivencia celular, pues células tomadas a los 15 días de gestación tienen un índice de supervivencia varias veces mayor que cuando se toman a los 18 días de gestación (Das y Col., 1980).

3. Edad del Sujeto Receptor. Si bien la supervivencia de las células transplantadas no se afecta por la edad del sujeto receptor, la integración de las células del transplante al tejido sujeto cerebro receptor y su crecimiento dependen hasta cierto punto de la edad de este

último. Si el trasplante se lleva a cabo dentro de los primeros días post-natales el crecimiento es mayor (Hallas y col, 1980). Esto podría deberse a que en dicho período del desarrollo postnatal el proceso de diferenciación y maduración de las células del cerebro receptor continúa, y en estas condiciones el cerebro receptor acepta con mayor facilidad células exógenas con propiedades similares (Das y Altman, 1971). Por otra parte el cráneo de la rata sigue creciendo y brinda un mayor espacio para el crecimiento del trasplante (Das y Hallas, 1978).

ASPECTOS INMUNOLOGICOS

Si bien el rechazo del tejido es uno de los mayores problemas cuando se transplantan órganos y tejidos a la periferia, esto no ocurre cuando se transplantan al cerebro. Por esta razón, se considera que el cerebro un sitio inmunológicamente privilegiado (Barker y Billingham, 1977; Raju y Grogan, 1977).

El trasplante de tejido nervioso entre animales de diferentes camadas e incluso de diferentes cepas se ha realizado con éxito. A la fecha no existen reportes de rechazo de ninguna de las áreas estudiadas. El trasplante entre sujetos de diferentes especies ha sido menos exitoso. Se han reportado períodos máximos de sobrevivencia de 6 meses (Low y col., 1982; Bragin y Vinogradova, 1981; Dunnett y col., 1982). En estos trabajos se ha sugerido que las células que migran más allá de la barrera hematoencefálica escapan al rechazo (Bjorklund y col., 1981 b). El

tratamiento con inmunosupresores incrementa la supervivencia del trasplante, como lo han demostrado estudios en que se administran ciclosporina A a ratas que reciben trasplantes de corteza cerebral de ratón (Inoue y col., 1985 a; 1985 b). Se ha reportado además que neuronas del septum de ratón inyectadas en suspensión al giro dentado de ratas con denervación colinérgica del hipocampo, restablecen la laminación característica de la distribución de acetilcolinesterasa, mejoran la ejecución en la prueba de laberinto, y elevan la actividad de la colina acetiltransferasa (Daniloff y col, 1983; 1984).

La razón por la cual el cerebro es un sitio inmunológicamente privilegiado se desconoce. Se han sugerido que los siguientes factores pudieran intervenir en dicho fenómeno: 1) Presencia de la barrera hematoencefálica (Bjorklund y col., 1981 b); la interrupción del brazo aferente del sistema inmune, es decir aquella porción del sistema que detecta la presencia de antígenos ajenos al organismo (Freed, 1983), y la escasez relativa de macrófagos fijos en el sistema nervioso (Tze y Tai, 1984).

Respecto al primer factor podemos asegurar que su participación en el fenómeno no es fundamental. Todas las técnicas de trasplante que se usan actualmente implican lesión de la barrera, a pesar de ello, los trasplantes sobreviven adecuadamente.

El segundo factor, podría tener un papel relevante en este fenómeno. Se ha sugerido que los antígenos asociados a

cualquier tipo de trasplantes no se exponen al sistema inmune cuando se transplantan a sitios considerados privilegiados, como lo es el cerebro (Wikstrand y Bigner, 1980). Se ha reportado que el trasplante de tejido nervioso al cerebro es incapaz de inducir sensibilización del sistema inmune del sujeto receptor, sin embargo, cuando dicho sistema es sensibilizado previamente por trasplantes de piel, se produce rechazo inmediato de trasplantes de tejido nervioso al cerebro (Freed, 1983). Estos resultados indican que a pesar de la capacidad del sistema inmune de capaz de provocar rechazo de los trasplantes colocados en el sistema nervioso, no es capaz de identificar los antígenos de los trasplantes colocados en ese sitio, lo cual apoya fuertemente la hipótesis de Wikstrand y Bigner.

El tercer factor podría también contribuir al fenómeno, sin embargo, la evidencia que lo apoya es muy indirecta. Se ha observado que las células endocrinas del páncreas purificadas sobreviven mucho mejor cuando se transplantan al cerebro de ratas diabéticas que las células de islotes pancreáticos no purificadas. Los autores sugieren que cuando los trasplantes contienen células no endocrinas, principalmente contaminadas por nódulos linfáticos, éstas son rechazadas (Tze y Tai, 1983; 1984; McEvoy y Leung, 1983).

ASPECTOS MORFOLÓGICOS

1. Diferenciación y citoarquitectura. Las células de los trasplantes son de apariencia normal y su comportamiento en cuanto a crecimiento y diferenciación es similar al de las

células del SNC en maduración. La citoarquitectura del tejido transplantado se asemeja en la mayoría de los casos al patrón característico del área madura (Das y Altman, 1971; Lund y Hauska, 1976; Das y Hallas, 1978; Kromer y col, 1979). Recientemente Kromer, Bjorklund y Steveni 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 reportes previos del efecto de la edad del donador en el índice del crecimiento del trasplante. Más importante que lo anterior resultan sus hallazgos 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 al SNC produciendo 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 y col, 1983).

Estudios recientes han confirmado estas observaciones en las células dopaminérgicas de la sustancia nigra. Sin embargo, indican que la maduración de estas células depende de interacciones con aferentes específicos, ya que una gran

población de las neuronas transplantadas presentaban características de inmadurez (Jaeger, 1985).

2. Conexiones neuronales. Las células dentro del trasplante muestran abundantes interconexiones. Además pueden observarse haces de fibras entre el trasplante y el sujeto cerebro receptor. Mediante técnicas electrofisiológicas y mediante estudios con peroxidasa de rábano, se ha demostrado que estas son tanto aferentes como eferentes (Lund y Hauska 1976, Kromer y col, 1979).

Las conexiones entre el trasplante y el cerebro receptor 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 Hauska, 1976; Das y Hallas, 1978; Bjorklund, Stenevi, 1979; Alvarado-Mallart y Sotelo, 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 cerebro receptor (Bjorklund y Stenevi, 1977; Bjorklund y col, 1976; 1979; 1979 b; Harvey y Lund, 1981). Esto sugiere la existencia de estímulos específicos (probablemente químicos) que dirigen el crecimiento de las fibras para formar un patrón de reinervación semejante al normal (Lund y Hauska, 1976; Bjorklund y Stenevi, 1979).

ASPECTOS FUNCIONALES

Recientemente varios investigadores han estudiado el efecto de los trasplantes en la recuperación de funciones alteradas por lesiones o deficiencias congénitas del SNC. Los sistemas estudiados incluyen: El hipocampo, el cuerpo estriado, la corteza frontal, el cerebelo, y el hipotálamo. Aunque existen pocos estudios funcionales, el rango de parámetros valorados incluyen un amplio espectro que va desde aspectos neuroendocrinos hasta procesos cognoscitivos.

1. Estudios Endocrinológicos.

a) Diabetes insípida congénita en ratas. Ratas con deficiencia congénita de vasopresina presentan poliuria y polidipsia intensa. El trasplante de células vasopresinérgicas del hipotálamo anterior al III Ventrículo de estas ratas disminuyó los síntomas mencionados. El efecto se presentó de 3 a 4 días después del trasplante. Es muy probable que éste sea mediado por vasopresina secretada por las células transplantadas (Gash y col, 1980).

Estos efectos no se observan si el trasplante se coloca en el ventrículo lateral (Gash y col., 1982), en el IV ventrículo (Harvey, 1984) ó en ratas recién nacidas (Boer y col., 1985). ni han podido ser reproducidos en otros laboratorios (Scott, 1984).

b) Hipogonadismo congénito en ratones. El trasplante del Área preóptica al III ventrículo es capaz de revertir el hipogonadismo causado por deficiencia congénita del factor liberador de gonadotrofinas en ratones mutantes. El efecto es mediado por un aumento en la concentración del factor

liberador de gonadotrofinas inducido por el trasplante, lo cual estimula la síntesis de hormona foliculo estimulante y luteinizante (Gibson y col., 1982; Gibson y col., 1984a). Además, el trasplante es capaz de revertir la infertilidad que caracteriza a estos animales (Gibson y col., 1984b).

c) Regulación de la conducta sexual en ratas. La diferenciación sexual depende de que el cerebro masculino esté expuesto a hormonas testiculares durante un período crítico del desarrollo prenatal. El núcleo dimórfico del área preóptica parece ser el principal sitio de acción de dichas hormonas. Trasplantes del núcleo dimórfico de ratas macho a la misma área de ratas hembra de un día de edad aumentan la conducta sexual femenina e inducen patrones de conducta sexual masculina, cuando se administran estrógenos o andrógenos, respectivamente. Trasplantes de otras áreas cerebrales no producen tales efectos. En todos los casos se observaron interconexiones entre el trasplante y el cerebro receptor (Arendash y Gorski, 1982).

d) La lesión selectiva de vías serotoninérgicas en el hipotálamo por inyecciones de 5,7-dihidroxitriptamina, inducen aumento de la conducta sexual inducida por inyección de estradiol (Luine y col., 1983). El trasplante del rafé fetal es capaz de revertir dicho efecto, lo cual se correlaciona con la reinervación serotoninérgica del núcleo ventromedial hipotalámico (Luine y col., 1984).

2. Estudios Neurológicos.

a) Lesiones de la vía septo-hipocampal. La lesión de las vías aferentes y eferentes del hipocampo producen diversas alteraciones manifestadas a través de pruebas conductuales. La lesión de la vía septo-hipocampal produce deficiencia en el aprendizaje de pruebas de laberinto, hiperactividad y disminución de la conducta de exploración (O'Keefe y Nadel, 1978). Ratas con lesión de la vía septohipocampal que recibieron transplantes de la banda septo-diagonal mejoraron la ejecución de pruebas de laberinto. La estimulación eléctrica del transplante provocó además un potencial de campo en el hipocampo del sujeto receptor (Low y col, 1982; Dunnett y col, 1982). Ratas que recibieron transplantes del locus coeruleus no mostraron mejoría en la ejecución de dichas pruebas. Sin embargo, en estos animales se observó una reducción de la hiperactividad producida por la lesión, la cual no fue observada en animales con transplante del septum (Dunnett y col, 1982a). Estudios previos indican que la estimulación eléctrica de transplantes del locus coeruleus que reinervan al hipocampo producen inhibición de la actividad eléctrica espontánea de las neuronas de este último, supuestamente a través de fibras adrenérgicas (Bjorklund y col, 1979a). En todos los casos anteriores, los efectos funcionales se correlacionaron a la reinervación del hipocampo por el transplante, pudiéndose distinguir el patrón característico colinérgico (septum) o noradrenérgico (locus coeruleus) de inervación.

b) Lesiones de la Vía Nigro-Estriatal. La lesión

unilateral de la vía nigro-estriatal por inyecciones de 6OH-Dopamina induce en la rata un síndrome caracterizado por curvatura postural, asimetría sensorial y conducta de giro producida por inyección de agonistas de la dopamina. Por otra parte, la lesión bilateral produce aquinesia, afagia, adipisia e incompetencia sensorial bilateral (Undgerstend, 1971; Ljungberg y Undgerstend, 1976). Transplantes de la sustancia nigra al ventrículo lateral (Perlow y col, 1979; Freed y col, 1980) o a una cavidad en la corteza parietal y el cuerpo calloso (Bjorklund y col, 1981) atenúan la conducta de giro inducida por inyección de apomorfina o anfetamina en ratas con denervación unilateral del estriado (Figura 13). Transplantes de la misma región colocados en una cavidad en la corteza lateral y cápsula externa disminuyen la asimetría sensorial en ratas con lesión unilateral y la aquinesia en ratas con lesión bilateral de dicha vía. Es interesante señalar que los transplantes colocados en el ventrículo lateral o en la cavidad de la corteza parietal no afectan significativamente, ni la aquinesia ni la asimetría sensorial, mientras que los transplantes colocados en la cavidad de la corteza lateral no afectan la conducta de giro inducida por fármacos. La actividad eléctrica espontánea de las células de los transplantes es similar en cuanto a frecuencia y forma de las ondas a la registrada "in situ" en la sustancia nigra compacta (Figura 14). Además la aplicación local en el transplante, ya sea de agonistas o antagonistas a la dopamina, inhiben o aumentan

respectivamente dicha actividad (Wuerthele y col., 1981). En todos los casos el trasplante reinervó específicamente el cuerpo estriado, restituyó parcialmente los niveles de dopamina, así como su velocidad de recambio en el estriado. El índice metabólico del trasplante es similar al de la sustancia nigra intacta medido a través del método de la C¹⁴-2-deoxiglucosa (Schmidt y col., 1982).

La estimulación de trasplantes de sustancia nigra que reinervan el caudado denervado previamente por inyección de 6-OHDA inducen y mantienen el fenómeno de autoestimulación (descrito por James Olds en ratas normales). Dicho efecto no se observa por estimulación de trasplantes corticales ó por estimulación de trasplantes de la sustancia nigra que induzcan reinervación dopaminérgica del estriado (Fray y col., 1983).

c) Trasplantes de células del estriado fetal al estriado lesionado por inyección del ácido iboténico, disminuyen la hiperactividad motora y la hiperactividad metabólica del sistema extrapiramidal inducida por lesión del estriado (Isacson y col., 1984; 1985).

d) Lesiones del cerebelo. La lesión de la corteza cerebelosa produce entre otros efectos disminución de la locomoción, asimetría e incoordinación motora general. Trasplantes de la corteza cerebral a estos animales disminuyen dichas alteraciones. Este efecto se correlaciona con la integración morfológica de la corteza cerebelar transplantada al cerebelo receptor (Wallace y Das, 1982).

e) Lesión de la corteza frontal. La lesión de la

corteza frontal medial causa alteraciones en algunas funciones cognitivas. Una manifestación de dichas alteraciones es el aumento en el número de ensayos necesarios para resolver correctamente un laberinto en T. El trasplante de la corteza frontal al sitio lesionado reduce significativamente dichas alteraciones. Este efecto no es obtenido por el trasplante de cerebelo. Estudios con peroxidasa de rábano demostraron conexiones entre el trasplante y áreas adyacentes de la corteza del sujeto receptor y los núcleos medial dorsal y anterior del tálamo (Labbe et al, 1982).

PERSPECTIVAS

Existen dos fenómenos que si bien no han sido mencionados en los estudios resumidos en la presente revisión, representan alternativas interesantes en el estudio de los trasplantes de tejido nervioso. Estos serían el uso de células cromafines de sujetos adultos para substituir el tejido fetal como fuente donadora y la posibilidad de crear bancos de tejidos congelados que pudieran ser transplantados en cuanto fuera necesario.

Recientemente se reportó que células cromafines de ratas adultas podían desarrollar fibras nerviosas ricas en catecolaminas cuando son transplantadas a la cámara anterior ocular de ratas adultas (Olson, 1970). Posteriormente se reportó que las fibras originadas en las células cromafinas podían inervar el tejido nervioso, en este caso la corteza

cerebral y el hipocampo, cuando se colocaban en la cámara anterior del ojo. Estas fibras formaban un plexo de fibras finas y varicosas similares a las fibras del locus coeruleus que normalmente inervan estas zonas cerebrales (Olson y col, 1980). Por otra parte, el trasplante de células cromafinas transplantadas en ventrículo lateral de ratas, con denervación dopaminérgica del cuerpo estriado, puede disminuir la conducta de giro inducida por apomorfina (Freed y col, 1981). Dicho efecto parece depender de los niveles de dopamina en dichos trasplantes (Freed y col., 1983). Estos resultados son similares a los obtenidos por Perlow y col, y Bjorklund y col, (véase Aspectos Funcionales) usando células de sustancia nigra fetal.

La posibilidad de usar células cromafinas adultas como sustituto del tejido nervioso embrionario ha permitido el empleo de esta técnica en humanos (Backlund y cols., 1985), ya que se resuelven por lo menos dos problemas. Estos son: 1) La posibilidad de rechazo del tejido transplantado. El usar tejido autólogo de la médula suprarrenal disminuye al mínimo este riesgo; 2) La disponibilidad de un donador de tejido se resuelve al ser el mismo sujeto donador y receptor. Los resultados de estos estudios son tema de controversia, por lo que se remite al lector al artículo original.

El efecto de la congelación y descongelación del tejido nervioso embrionario sobre las características de viabilidad y desarrollo posterior del trasplante al SNC adulto ha sido estudiado recientemente. Dichos trabajos demuestran que el

tejido congelado a -70°C puede sobrevivir y se desarrolla después del trasplante sin mostrar diferencias respecto al trasplante de tejido fresco. (Houle y Das, 1980; Jensen y col., 1984; Gage y col., 1985).

El poder congelar el tejido nervioso para transplantar presenta dos ventajas con respecto al uso del tejido fresco: 1) Permite la formación de un banco de tejido con control exacto de la edad del donador; y 2) Hace posible el uso de la técnica en especies superiores; por ejemplo gatos, perros y primates, en los cuales la disponibilidad de tejido con un desarrollo determinado es complicado por razones técnicas.

Recientemente se ha reportado que el trasplante de células de la línea PC12, los cuales pueden sintetizar y liberar dopamina y noradrenalina en grandes cantidades, disminuyen el giro inducido por apomorfina en animales con lesión unilateral de la vía nigro estriatal. Dichas células se necrosaron después de 2 semanas de ser transplantadas, sin que se conozcan las razones de esto. Ya que estas células en cultivo degeneran a las pocas horas, la supervivencia observada en los trasplantes se considera significativa. Esto sugiere que si se logra determinar las causas que favorecen o impiden la supervivencia de estas y otras áreas celulares al transplantarse se podrían utilizar como fuente de tejido donador para sustituir al tejido fetal o glandular (Hefti y col., 1985).

CONCLUSIONES

De los trabajos resumidos anteriormente se concluye que:

Es posible transplantar con éxito tejido nervioso fetal al SNC de animales adultos.

El tejido transplantado continúa su crecimiento y diferenciación en el receptor, mostrando el patrón citoarquitectónico que lo caracteriza.

Se forman abundantes conexiones entre las células dentro del trasplante, y entre éstas y las del tejido receptor. Estas conexiones se establecen en ambos sentidos.

La formación de patrones de reinervación característicos indica que los mecanismos que determinan el crecimiento de fibras del trasplante y el receptor está gobernado por estímulos específicos.

El tejido transplantado interactúa funcionalmente con el receptor y promueve la recuperación de diversas funciones perdidas por lesiones o alteraciones congénitas del SNC.

La especificidad del tejido transplantado para producir efectos funcionales señala que los mecanismos involucrados son similares a los que regulan la función en el animal intacto.

En base a lo anterior es factible proponer que la técnica de trasplantes del SNC fetal es un instrumento útil, no solo para el estudio de la plasticidad cerebral en el adulto, sino también para el análisis detallado de la organización funcional de diversos circuitos neuronales y los mecanismos neuroquímicos involucrados.

C. OBJETIVOS E HIPOTESIS

Inouye y Kawamura en 1979 propusieron que:

" Hay solo dos formas de observación obvias que pueden demostrar la autonomía, como oscilador, de cualquier porción de tejido. El primer enfoque que es necesario para definir un marcapaso es la demostración de la competencia del tejido para restablecer la ritmicidad, y dictar su fase y periodo, cuando se implanta en un receptor arrítmico por pérdida de ese tejido".

En nuestro laboratorio nos interesamos en evaluar la capacidad del tejido nervioso transplantado para inducir recuperación funcional. Para tal efecto escogimos como modelo experimental, la pérdida del ritmo circádico de ingestión de agua inducida por lesión del NSQ en ratas adultas. Los resultados de dichos estudios indican que el transplante del hipotálamo que contiene al NSQ es capaz de reorganizar el patrón temporal de ingestión de agua. De tal forma que animales con lesión del NSQ que no presentan ritmo circádico en esta conducta, recuperan el ritmo diurno (Figura 8) 6 semanas después de recibir el transplante del NSQ fetal (Drucker-Colín y col., 1984).

Dado que nuestro estudio se realizó en condiciones de luz y oscuridad, no fue posible determinar si el ritmo observado se debía o no a un proceso endógeno, es decir a un ritmo circádico. Además nos planteó el problema de determinar si los efectos observados son específicos del área de cerebro transplantada. El experimento que se describe a continuación tuvo como objetivo el abordar directamente estos problemas.

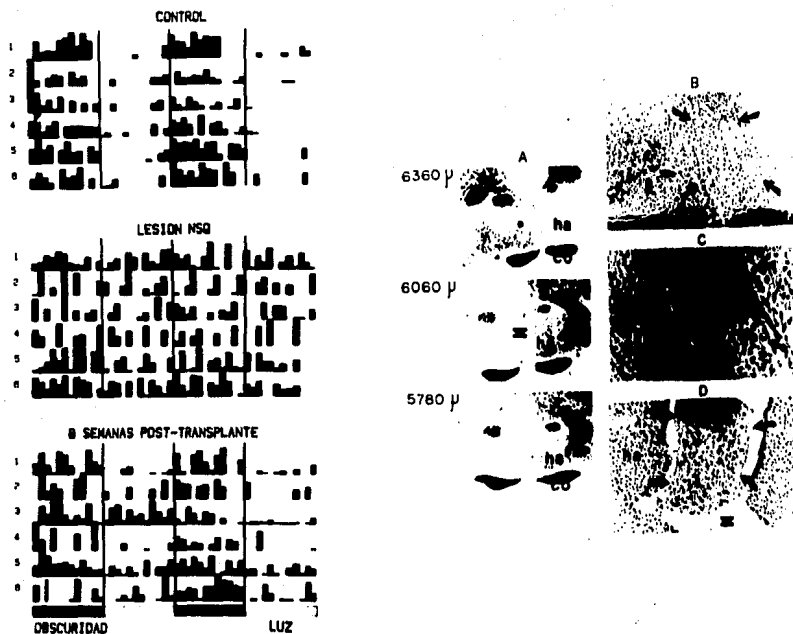


Figura 8. Efecto del transplante de Hipotálamo fetal sobre el ritmo de ingesta de agua de ratas con lesión del NSQ. A: Histogramas de la frecuencia de ingesta de agua durante 48.00 hrs. de ratas intactas (arriba), después de la lesión del NSQ (centro) y después del transplante de hipotálamo fetal al III ventrículo (abajo). El transplante restableció el patrón cíclico de ingesta de agua en las ratas lesionadas. B: Cortes coronales seriados del cerebro de rata a nivel del quiasma óptico, donde se observa la localización del transplante en el III ventrículo y la zona lesionada (Izquierda). La amplificación del corte central se observa a la derecha (arriba y centro), así como otro ejemplo en el cual el transplante solo estableció algunos puentes con las paredes ventriculares (flechas abajo). (Tomado de Drucker-Colín y col., 1984.)

Objetivos Generales

- I. Determinar si el ritmo de ingesta de agua inducido por trasplante de NSQ fetal a ratas arrítmicas por lesión del NSQ es un ritmo endógeno.
- II. Determinar si dicho efecto del NSQ fetal depende de la localización del trasplante en el cerebro del receptor.
- III. Determinar si dicho efecto es específico al NSQ fetal ó si otras áreas del cerebro fetal son capaces de inducir el fenómeno.

Objetivos Específicos

En ratas arrítmicas por lesión de NSQ que recibieron el trasplante de NSQ fetal en el III ventrículo:

- I.1 Determinar el efecto de la luz continua sobre el patrón temporal de ingesta de agua.
- I.2 Determinar el efecto de la obscuridad continua sobre el patrón temporal de ingesta de agua.

En ratas arrítmicas por lesión de NSQ que recibieron el trasplante de corteza occipital fetal en el III ventrículo:

- II.1 Determinar el efecto de dicho trasplante en el patrón temporal de ingesta de agua en un ciclo de luz-obscuridad (12:00 - 12:00)
- II.2 Determinar el efecto de la luz continua sobre dicho patrón temporal.
- II.3 Determinar el efecto de la obscuridad continua sobre dicho patrón temporal.

En ratas arrítmicas por lesión del NSQ que recibieron el trasplante de NSQ fetal en la corteza occipital:

III.1 Determinar el efecto de dicho trasplante sobre el patrón temporal de ingesta de agua en un ciclo de luz-obscuridad (12:00 - 12:00).

Las hipótesis de trabajo para cada fase del experimento fueron las siguientes:

I. H₀: Tanto la luz como la obscuridad continua interrumpen el ritmo estudiado.

H₁: Tanto la luz como la obscuridad continua inducen corrimiento libre del ritmo estudiado.

II. H₀: La capacidad de inducir un ritmo diurno de ingesta de agua es común a otras áreas del SNC fetal además del NSQ.

H₁: La capacidad de inducir un ritmo diurno de ingesta de agua es específica del NSQ fetal.

III. H₀: El efecto del trasplante del NSQ fetal no depende de la localización del trasplante en el cerebro del receptor.

H₁: El efecto del trasplante del NSQ fetal depende de la localización del trasplante.

II. METODOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Sujetos: Se utilizaron ratas Wistar de ambos sexos. Los machos sirvieron como sujetos receptores y como sementales para apareamiento. Las hembras se utilizaron para apareamiento, para aportar los fetos que sirvieron como donadores del tejido a transplantar.

Condiciones ambientales: Los sujetos experimentales se colocaron en cajas individuales con comida y agua a disposición continua. Las cajas se colocaron en un cuarto con un programa de iluminación de 12 hrs. de luz (08:00 - 20:00) y 12 hrs. de oscuridad (20:00 - 08:00) controlado automáticamente. Estas condiciones se mantuvieron dos semanas antes y durante el transcurso de los experimentos, a menos que se indique lo contrario.

Registros. Se determinó el patrón temporal de ingesta de agua mediante un sistema de monitoreo continuo diseñado en el laboratorio. La rata se colocaba en una caja de acrílico transparente de 40 x 25 x 20 cm (fondo, frente y alto). En el piso del tercio frontal de la caja se colocó una placa de aluminio, justo por encima de esta placa se colocaba la botella con agua, con un bebedero de acero inoxidable. Este se aislaba con un tubo de plástico de 2 mm de espesor que sobresalía 2mm del orificio de salida del bebedero. De tal forma que para que la rata bebiera agua, era necesario que se

parara sobre la placa del piso e introdujera la lengua un par de mm dentro del plástico protector del bebedero. Esto nos permitió garantizar que la rata solo hacia contacto con el bebedero al tomar agua y no al realizar otras actividades. La placa y el bebedero se conectaban respectivamente a las terminales negativa y positiva de un circuito oscilador monoestable. Cada vez que la rata tocaba el bebedero el circuito generaba un pulso, el cual se normalizaba posteriormente en duración e intensidad. El pulso normalizado alimentaba el convertidor analógico-digital de una computadora Apple II-e, la cual almacenaba la información en bins de 30 segundos. Posteriormente esta información se compactaba en archivos de 15 minutos almacenados en el disco flexible del sistema. Con este sistema se puede monitorear el patrón temporal de ingesta de 15 ratas simultáneamente.

Lesiones: Los sujetos se anestesiaron con pentobarbital (35 mg/kg) y se montaron en un aparato estereotáxico, con la barra de los incisivos en 0. La lesión electrolítica del núcleo supraquiasmático se realizó mediante un electrodo monopolar a través del cual se pasó 1 mA de corriente directa durante 45 segundos. El electrodo estaba formado por una barra de acero inoxidable de 0.65 mm de diámetro, recubierta con epoxy, excepto a una distancia de 0.5 mm de la punta. La colocación del electrodo en el sitio deseado dentro del cerebro se hizo con el aparato estereotáxico. Las coordenadas empleadas fueron AP=0.2; L=0.0; V=8.5 respecto a Bregma.

Transplantes: Ratas hembra Wistar en edad de procreación se colocaron durante una noche junto con machos adultos en proporción de 4:1. Transcurrido ese lapso se retiró al macho y las hembras en las que se encontraron espermatozoides en la vagina, se consideraron en el día 1 de gestación.

El tejido a transplantar se obtuvo de fetos de 17 días de gestación. Las ratas preñadas en este período se anestesiaron con hidrato de cloral (400 mg/kg) y se procedió a exponer el útero mediante una laparotomía. Los fetos se extrajeron de éste en el momento del transplante.

El cerebro se extrajo del feto y se colocó sobre su cara dorsal en una caja de petri con solución salina fisiológica a temperatura ambiente. Bajo microscopio de disección se localizó la convergencia de las arterias cerebrales anteriores y la emergencia de los nervios ópticos. Se realizaron cortes a nivel rostral y caudal de la emergencia del nervio y entre éste y las arterias mencionadas, estos últimos cortes se dirigieron en sentido dorsomedial, formando un bloque de aproximadamente 5 mm³ en forma de pirámide cuadrangular cuya base era el quiasma óptico. Este bloque de tejido se inyectó en 100 ul de solución salina al III ventrículo de los animales lesionados, o bien en una cavidad preparada en la corteza occipital. La inyección del tejido al III ventrículo se realizó a través de una aguja cal. 18, colocada justo por encima del área lesionada. El tiempo transcurrido entre la incisión del útero y la inyección del

tejido fue de aproximadamente 3 min. y no mayor de 6 minutos.

Histología. Una vez concluido el experimento (aproximadamente 5 meses después) se anestesió al sujeto con pentobarbital sódico, después de lo cual se procedió a la perfusión transcardiaca de 100 ml de solución salina fisiológica seguidos de 200 ml de solución de formol al 10%. Posteriormente, el bloque se post-fijó en formalina durante 10 días, se incluyó en parafina y se obtuvieron cortes de 10 um de espesor. Estos se tiñeron por el método de Kluver-Barrera (1953). Esta tinción permite visualizar las características de los cuerpos celulares y las fibras mielinizadas.

Análisis y Estadística: Para cada 24 hrs. de registro, se graficó la frecuencia de ingesta de agua por períodos de 1 hr., expresada como porcentaje de la ingesta en 24 hrs. Con éstas se construyó una gráfica doble (Double Plot), que permite visualizar con facilidad el patrón temporal del fenómeno medido. Esta gráfica doble consiste en graficar en sentido vertical los días consecutivos de registro, y en sentido horizontal el día siguiente al correspondiente a cada renglón. De tal forma que si se registraron 20 días continuos, la gráfica doble de estos datos tendrá 19 renglones y 2 columnas en el renglón 1 estarán graficados los días 1º y 2º, en el renglón 2 los días 2º y 3º, y así sucesivamente hasta el renglón 19, en el que estarán los días 19º y 20º.

Se calculó la frecuencia de ingesta de agua durante la

fase de luz y la de obscuridad. Estos datos se sometieron a un análisis de varianza de muestras repetidas para determinar si habían diferencias diurnas en la ingesta de agua para cada uno de los grupos estudiados (Control, lesión, transplante de NSQ a III ventrículo, transplante de corteza a III ventrículo y transplante de NSQ a corteza) bajo el ciclo de luz-obscuridad. Las pruebas de hipótesis se realizaron mediante la t de student apareada (Daniel, 1983).

Se realizó un análisis de densidad espectral mediante la transformada rápida de Fourier y la función de autocorrelación de las series de tiempo, usando para ello los datos de frecuencia de ingesta por periodos de 15 minutos. Este análisis nos permitió determinar la contribución relativa de distintas frecuencias de oscilación para la distribución temporal de la conducta (Bendat y Piersol, 1966).

Diseño Experimental. Se estudiaron 72 ratas Wistar macho con un peso entre 180 y 200 gr al inicio del experimento. Sesenta de estos animales se sometieron a la lesión electrolítica del NSQ, el resto se usaron como controles intactos. Inmediatamente después de su recuperación de la anestesia, los sujetos lesionados se colocaron en las cajas de registro, donde permanecieron por el resto del experimento, se registraron por un mínimo de 6 semanas. De los 60 animales lesionados, 42 presentaron pérdida del ritmo de ingesta de agua por 6 semanas continuas. Consideramos que esta pérdida del ritmo observada bajo un

ciclo luz-obscuridad es un indicador conductual de lesión completa de NSQ. En un estudio previo (Drucker-Colín y col., 1984), observamos que la pérdida del ritmo durante más de 5 semanas continuas se correlacionaba con lesiones bilaterales completas del NSQ confirmadas histológicamente. Los 18 animales restantes presentaron un claro ritmo de ingesta de agua en menos de tres semanas posteriores al trasplante. Estos sujetos se sacrificaron para realizar la verificación histológica del sitio de lesión.

Las 42 ratas con pérdida del ritmo de ingesta de agua se dividieron en 4 grupos. En un grupo de 6 sujetos no se realizó ninguna otra manipulación quirúrgica y se usaron como control de los efectos de la lesión para confirmar la ausencia de recuperación espontánea. Diecisiete ratas recibieron el trasplante de hipotálamo anterior conteniendo el NSQ en el III ventrículo, justo por encima del área lesionada. Trece ratas recibieron el trasplante de la corteza occipital fetal en el III ventrículo, justo por encima del área lesionada. Seis ratas recibieron el trasplante del hipotálamo anterior conteniendo al NSQ en una cavidad en la corteza occipital, la cual fue preparada por aspiración una semana antes del trasplante para permitir la proliferación vascular.

Estos grupos y uno adicional formado por 12 animales intactos se registraron por 6 semanas continuas bajo un ciclo de iluminación de luz-obscuridad 12:00 x 12:00 (la luz se encendía a las 8:00 hrs). Al término de este periodo todos los grupos se dividieron en 2 subgrupos, uno de los cuales se

sometió a luz continua y el otro a obscuridad continua. La condición correspondiente se mantuvo durante 8 semanas, al término de las cuales los animales se sacrificaron y se procesó su cerebro para el estudio histológico. El diseño experimental se resume en la Tabla II. Los experimentos se realizaron entre enero de 1984 y diciembre de 1985.

TABLA II. RESUMEN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL.

ILUMI- NACION EN SEMANAS	DURACION EN SEMANAS	INTACTAS (I)	LESION (II)	LESION MAS TRANSPLANTE		
				NSQ-III V III	CxOcc-III V IV	NSQ-Cx V
L-O	6	-	N=60*	-	-	-
L-O	6	N=12	N=6	N=17	N=13	N=6
L-L+	8	N=6	N=3	N=9	N=6	N=3
O-O++	8	N=6	N=3	N=8	N=7	N=3

Abreviaturas:

- NSQ-III V = Transplantes de NSQ al III ventrículo
 CxOcc-IIIIV = Transplante de corteza occipital al III ventrículo
 NSQ-Cx = Transplante de NSQ a la corteza occipital
 L-O = Ciclo de luz-obscuridad 12:00 x 12:00 hrs
 L-L = Luz continua
 O-O = Obscuridad continua
 N = Número de sujetos
 * = De los 60 sujetos lesionados se desecharon 18 que no presentaron alteración del ritmo de ingestión durante las 6 semanas de registro. Los 42 restantes se dividieron en 4 grupos (II, III, IV y V).
 + = Los sujetos estudiados en esta fase representan un subgrupo de los registrados previamente en L-O.
 ++ = Los sujetos estudiados en esta fase representan el otro subgrupo de los registrados previamente en L-O.

III RESULTADOS

1. SUJETOS INTACTOS.

Los sujetos no lesionados presentaron evidente ritmicidad circádica en la conducta de ingestión de agua, la cual se caracterizó por mayor porcentaje de dicha conducta durante el período de obscuridad. El ritmo se sincronizó con el ciclo Luz-Obscuridad, en algunos casos esto se realizó entre el inicio del período de ingestión de agua y el inicio de la fase de obscuridad, mientras que en otros se presentó entre el fin del período de ingestión y el inicio de la fase de luz.

Durante las fase de Luz continua y obscuridad continua los sujetos presentaron corrimiento espontaneo (FREE RUN) del ritmo en estudio. El período de oscilación del ritmo en los sujetos en luz continua fue ligeramente mayor que el observado en los sujetos en obscuridad continua. Después de la tercera semana en luz continua, los sujetos sometidos a esta condición presentaron atenuación del ritmo. Esto se manifestó por un aumento en el porcentaje de ingestión de agua durante el período que de acuerdo a la conducta del sujeto correspondería a la fase diurna del ciclo de iluminación (día "SUBJETIVO").

El análisis de Densidad Espectral de los datos obtenidos durante la fase de Luz-Obscuridad demostró la presencia de un componente principal, el cual se acompañaba de varios componentes conspicuos pero de mucho menor

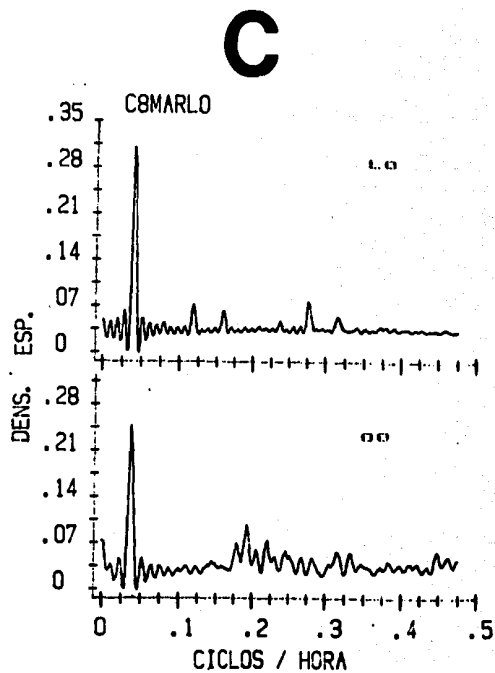
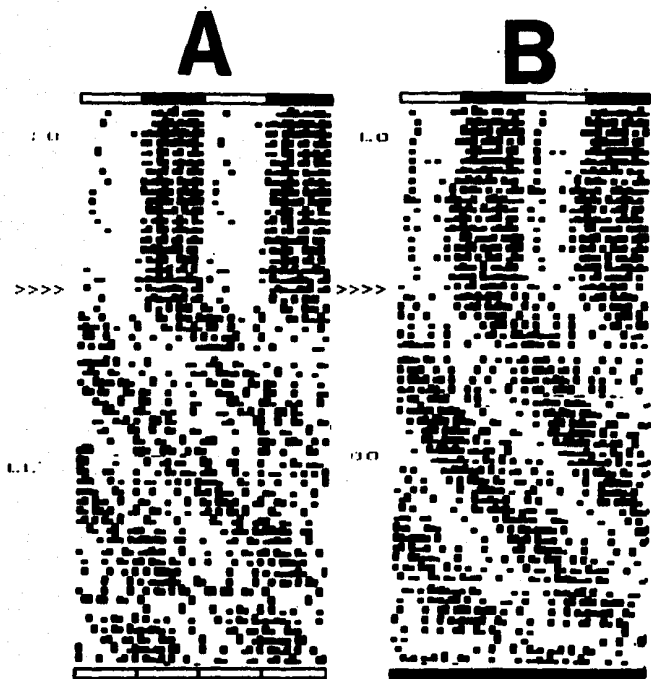


Figura 9. Histogramas de frecuencia de ingesta de agua ordenados con la técnica de gráfica doble que ilustran el ritmo circádico de dicha conducta. Durante la fase de luz-oscuridad (LD) el ritmo estaba sincronizado al ciclo de iluminación. Cuando el sujeto se mantuvo en luz constante (LL) ó oscuridad constante (DD), se presentó corrimiento libre del ritmo. El sujeto en luz continua (A) presentó atenuación del ritmo hacia la 3a. semana en esta condición. Esto no se presentó en el sujeto en oscuridad continua (B). Las graficas del análisis de densidad espectral (C) de un sujeto que se mantuvo en LD (arriba) y DD (abajo). El pico del componente principal cambio de 0.040 ciclos/hr ($t = 24.00$) en LD a 0.039 ciclos/hr ($t = 24.5$). En esta y las siguientes graficas dobles las barras horizontales al inicio y al final del registro indican el patrón de iluminación. La barra blanca el periodo de luz, la barra negra indica el periodo de oscuridad. Las flechas indican el cambio en el patrón de iluminación.

amplitud. El componente principal presentó un periodo de 24.00 hrs, lo cual representa la periodicidad circádica de la conducta de ingestión de agua. Los componentes que acompañaban el pico circádico de actividad correspondían a patrones rítmicos ultradianos. Estos últimos componentes no fueron motivo de estudio adicional. Durante las fases de Luz o de Oscuridad constante el componente circádico presentó un ligero corrimiento hacia la izquierda de la gráfica, lo cual representa un nuevo período de oscilación, de 24.7 hrs. para la fase de luz continua y de 24.5 hrs. para la fase de oscuridad continua. Además, se observó que dicho componente presentaba disminución en la potencia del espectro y ensanchamiento en la base del pico.

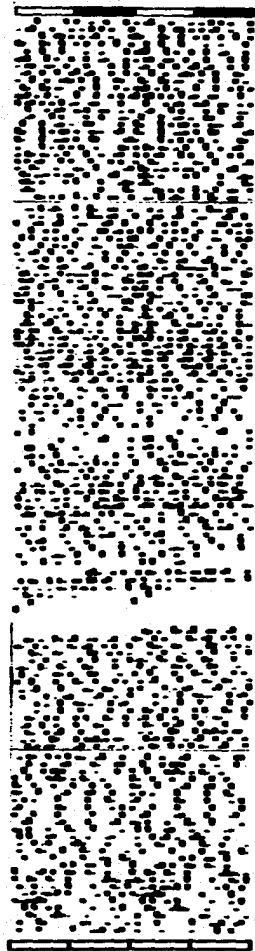
Las figura 9 ilustra los resultados descritos anteriormente.

2. EFECTO DE LA LESION DEL NSQ.

Se lesionaron 60 sujetos en el NSQ, de los cuales 18 presentaron desorganización transitoria del ritmo de ingestión de agua. El lapso transcurrido desde la lesión hasta la reorganización del ritmo varió de unos cuantos días hasta cuatro semanas. La verificación histológica del área lesionada demostró que esta no abarcaba la totalidad del NSQ. La duración de los efectos conductuales se correlacionó con la extensión dañada del NSQ. No se realizaron intentos de cuantificar dicha relación.

El resto de los sujetos lesionados (48) presentaron desorganización continua del ritmo circádico estudiado durante las seis semanas siguientes a la realización de la lesión. Cuarenta y dos de estos sujetos recibieron trasplantes de tejido cerebral fetal, de acuerdo a lo descrito en la sección correspondiente a Métodos. En los seis sujetos restantes que no recibieron ningún tipo de trasplante, se observó que la desorganización del ritmo se mantuvo durante las 22 semanas posteriores a la lesión, lapso que corresponde al período de sobrevivencia de estos animales.

El análisis espectral de los registros de estos sujetos demostró la desaparición del componente circádico y la aparición de componentes ultradianos múltiples. Si bien en todos los sujetos lesionados se observaron estos componentes ultradianos, el período que los caracterizaba presentó gran variabilidad. En términos generales los períodos observados

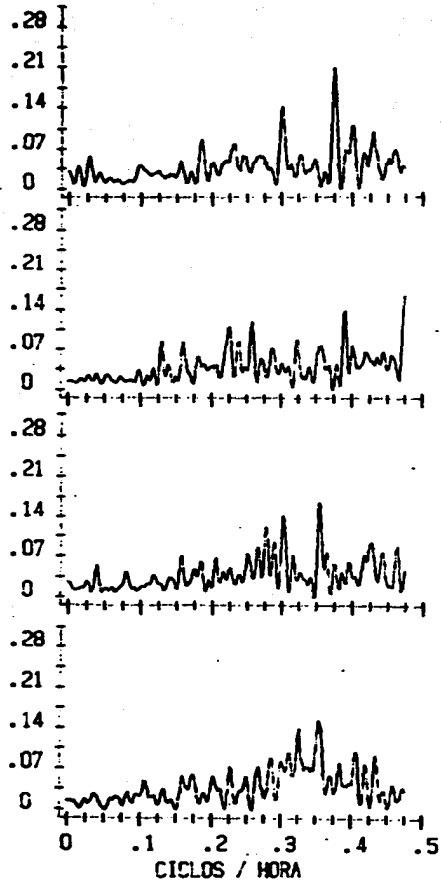


LESION

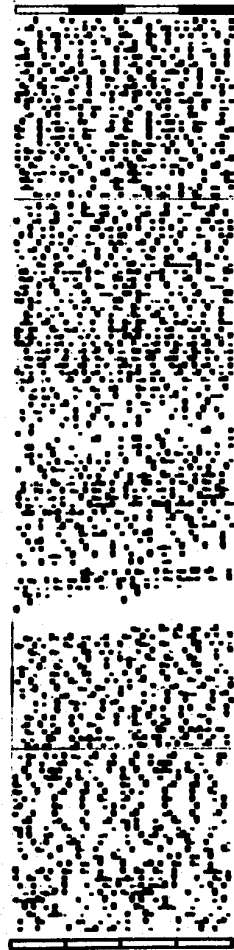
ESP



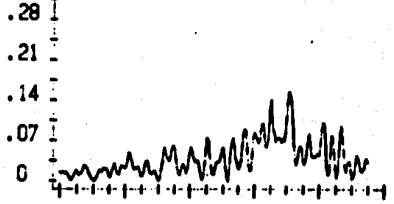
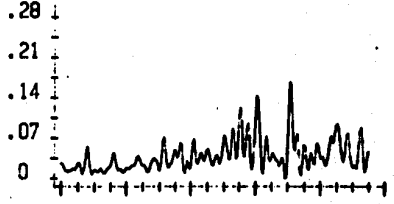
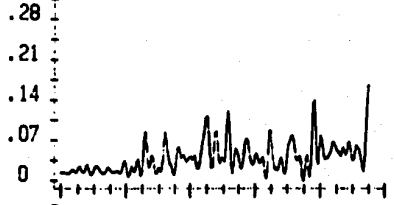
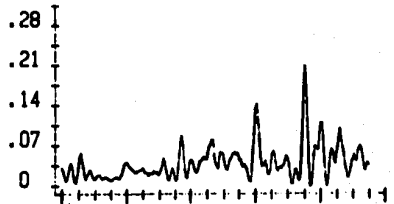
DENS. ESP.



LESION



DENS. ESP.



CICLOS / HORA

Figura 10. A: Grafica doble del registro de ingesta de agua de un sujeto con lesión del NSQ. Es notoria la completa desorganización del patrón temporal de la conducta durante la duración del experimento. B: Gráfica del análisis de densidad espectral de las áreas señaladas en A. Se observa la desaparición del componente circádico y la aparición de componentes de mayor frecuencia (Ultradianos).

variaron entre un mínimo de 2 hrs. y un máximo de 8 hrs.

La verificación histológica del sitio de lesión indicó que esta abarcaba la totalidad del NSQ y se extendía hacia la áreas hipotalámicas adyacentes, incluyendo frecuentemente al quiasma óptico. Entre las áreas hipotálamicas lesionadas además del NSQ se encontraban el área ventromedial del hipotálamo anterior, el nucleo preóptico periventricular, la porción supraquiasmática del nucleo preóptico y el tracto infundibular.

En la figura 10 se ilustra el registro de un sujeto que presentó arritmia circádica durante las 22 semanas posteriores a la lesión, así como el analisis espectral de algunos segmentos de estos datos. La figura 11 ilustra la localización de la lesión en cortes coronales seriados del sujeto cuyo registro se ilustra en la figura anterior. Se observa la destrucción completa del NSQ. La reconstrucción de los sitios de lesión en otros 4 sujetos que presentaron perdida permanente del ritmo circádico se ilustra en la figura 12.



Figura 11. Cortes coronales del cerebro de rata cuyos registros se muestran en la figura anterior. Se puede apreciar que la lesión destruyó completamente el NSQ. En este caso la lesión involucro el Quiasma Optico y el hipotálamo anterior adyacente.

3. EFECTO DEL TRANSPLANTE DE HIPOTALAMO FETAL AL III VENTRICULO

El transplante del hipotálamo anterior fetal indujo la recuperación del patrón temporal de ingestión de agua en 12 de los 17 sujetos que lo recibieron. En el análisis histológico de dos sujetos en los que no hubo recuperación no se identificó el tejido transplantado, lo que sugiere que el transplante no sobrevivió. En los otros tres sujetos el transplante se observó como una masa de tejido en degeneración en la luz del III ventrículo. En estos casos el transplante se encontraba infiltrado por macrófagos y resultaba evidente la proliferación glial. Se observaron gran cantidad de vacuolas que abarcaban la mayor parte del transplante. Si bien en algunos cortes fue posible identificar neuronas de apariencia normal, estas eran muy escasas en relación a la gran cantidad de células gliales observadas. En los 12 sujetos en los que sí se observó recuperación del patrón temporal, el transplante se identificó como una masa de tejido en la luz del III ventrículo, adherido a sus paredes laterales. El transplante se extendía del borde caudal del sitio que ocupaba el NSQ hasta la porción rostral de la eminencia media. Una capa de tejido glial limitaba la interfase entre el cerebro del receptor y el transplante, aunque en algunos niveles no se encontró esta barrera. En la mayoría de los casos no se observó la capa de células endoteliales en la zona de contacto entre el transplante y la pared del ventrículo. El

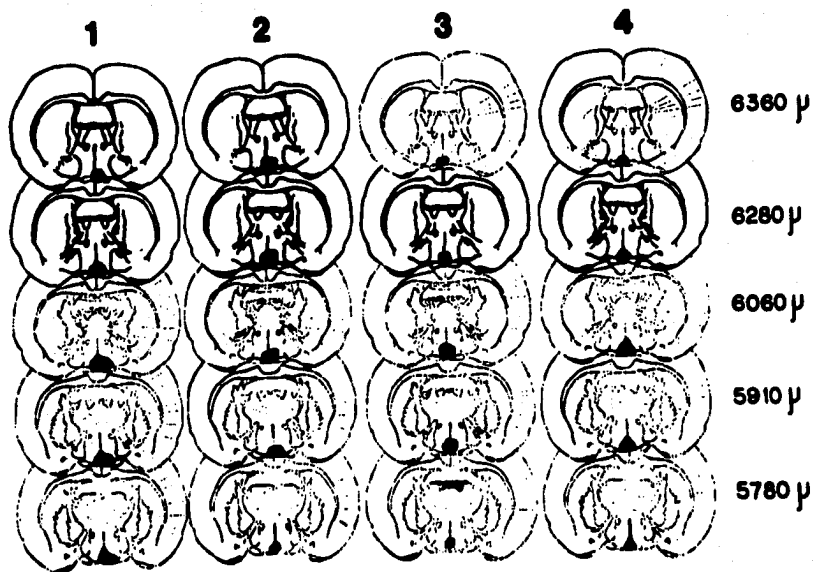


Figura 12. Esquemas de cortes coronales seriados de 4 sujetos con lesión del NSQ que no presentaron recuperación espontánea del ritmo, a la derecha se indican las coordenadas estereotaxicas del atlas de Kunning y Klipel.

transplante se componía de gran cantidad de neuronas y de glia de apariencia y normal, la relación entre estos tipos celulares era similar a la observada en el hipotálamo adyacente del receptor. Basándonos en la tinción empleada no es posible demostrar conexiones entre el tejido transplantado y el cerebro receptor.

El patrón temporal de ingestión de agua se reorganizó paulatinamente después de realizado el transplante, lo cual se manifestó como un aumento progresivo en el porcentaje nocturno de ingestión de agua. A partir de la cuarta semana post-transplante podían observarse pequeñas diferencias entre la proporción de ingestión de agua nocturna y diurna. Sin embargo dichas diferencias alcanzaron valores máximos a partir de la quinta semana post-transplante. Estos resultados se ilustran en la tabla III. Las observaciones anteriores se corroboraron con el análisis de varianza y la prueba de T, las cuales demostraron diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de ingestión de agua diurno y nocturno a partir de la 5a. semana post-transplante ($F= 7.01; T= 4.7 ; P < 0.05$). Dichos análisis no mostraron diferencias entre la ingestión diurna y la nocturna en los mismos sujetos antes de recibir el transplante ($F= 7.01; T= 1.6 ; P > 0.05$), ni en los sujetos lesionados que no recibieron transplantes ($F= 1.05; T= 0.96 ; P > 0.05$).



Figura 13. Cortes coronales de dos transplantes de Hipotálamo fetal al III ventrículo (V). El transplante ocupa la mayor parte del lumen ventricular. Este se fusiona a distintos niveles con las paredes laterales del ventrículo, donde puede observarse una interfase de células gliales. En el caso que se ilustra a la derecha se observa una región de fusión, en el ángulo superior izquierdo, que carece de dicha barrera glial. Se distinguen gran cantidad de cuerpos celulares que pertenecen a neuronas y células gliales. No se observan diferencias, en cuanto a tamaño y apariencia de estas células, con respecto a las del hipotálamo adyacente.

TABLA III. PORCIENTOS DE NOCTURNALIDAD DE INGESTA DE AGUA ANTES Y DESPUES DEL TRANSPLANTE HIPOTALAMICO EN SUJETOS CON LESION DEL NSG.

SEMANAS POST-LESION						
	1a.	2a.	3a.	4a.	5a.	6a.
X	61.42	63.6	50.99	46.84	50.0	56.18
± DE	10.35	7.56	12.46	10.69	12.7	7.45

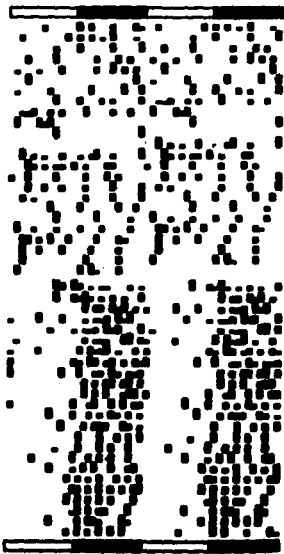
SEMANAS POST-TRANSPLANTE						
	1a.	2a.	3a.	4a.	5a.	6a.
X	57.51	59.9	61.2	62.91	67.69*	71.83*
± DE	12.5	5.98	4.61	9.57	11.82	6.45

* $P < 0.01$ con respecto a la ingestión de agua diurna.

El ritmo inducido por los trasplantes de hipotálamo fetal se sincronizó con el ciclo Luz-Obscuridad. El período de mayor ingestión de agua ocurrió durante la fase de obscuridad, en la mayoría de los casos el fin del periodo de ingestión coincidió con el inicio de la fase de luz.

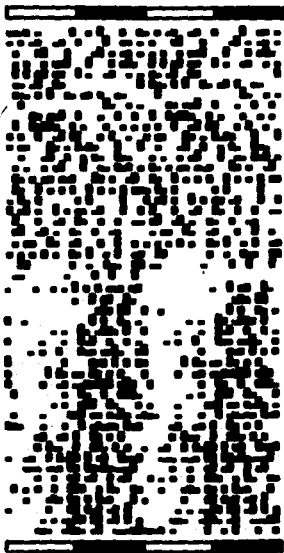
En el analisis de densidad espectral se observó en la sexta semana post-transplante la reaparición del componente circádico ($t = 24.00$ hrs.), el cual se añadía a los diversos componentes ultradianos que aparecieron despues de la lesión. La intensidad del componente circádico en los sujetos trasplantados fue menor que en los sujetos controles, pero significativamente mayor que el residuo del componente circádico antes de realizar el transplante ($P > 0.001$). Los

A



LESION

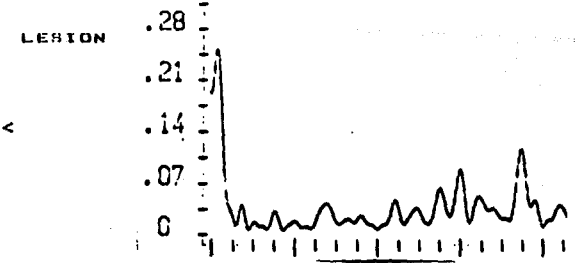
←←←



LESION

←←←

B



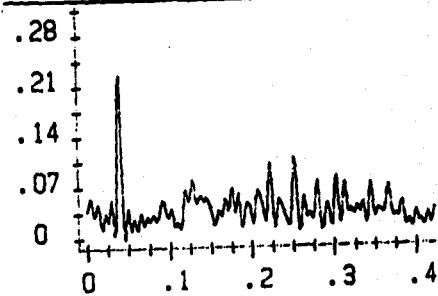
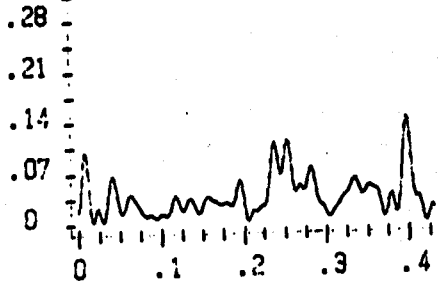
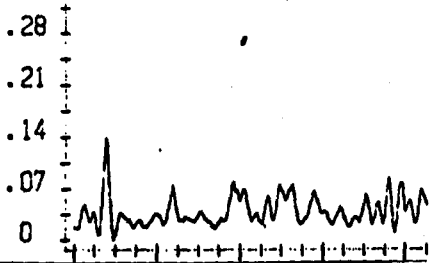
TRANSPLANTE

CX

PULS. / SEG.

LESION

TRANSPLANTE



CICLOS / HORA

Figura 14. A: Registros con lesión del NSQ que recibieron transplante de Hipotálamo al III ventrículo. La 6a semana post-lesión se grafica en la porción superior de las gráficas, las flechas indican el registro a partir de la 3a semana post-transplante. El patrón de ingesta de agua comienza a reorganizarse a partir de la 5a. semana. B: El análisis de densidad espectral indica la recuperación del componente circádico después del transplante de hipotálamo.

valores de la media para los diferentes grupos se resumen a continuación.

TABLA IV. VALOR DE LA DENSIDAD ESPECTRAL ANTES Y DESPUES DEL TRANSPLANTE DE HIPOTALAMO FETAL AL III VENTRICULO.

	CONTROL	LESION	TRANSPLANTE
\bar{X}	0.35	0.05 *	0.23 **
DE	± 0.07	± 0.02	± 0.07

* $P < 0.001$ Respecto al control.

** $P > 0.05$ Respecto al control.

En la figura 13 se ilustran cortes coronales del tejido transplantado, donde se aprecian sus características histológicas. Las gráficas dobles de sujetos en los que el transplante indujo recuperación del patrón temporal se ilustran en la figura 14a. El análisis de densidad espectral de algunos segmentos de los datos presentados en la figura anterior se ilustran en la figura 14b.

4. EFECTO DEL TRANSPLANTE DE LA CORTEZA OCCIPITAL FETAL AL III VENTRICULO.

Estos trasplantes indujeron reorganización del patrón temporal de ingestión de agua en 12 de los 13 sujetos en los que se realizaron. En el caso en el que no se observó el efecto conductual post-trasplante, el tejido transplantado presentó claros signos de necrosis. Estos consistían en presencia de macrófagos en el trasplante, proliferación glial, escasas neuronas y extensas zonas de vacuolización en el trasplante. En el estudio histológico de los 12 sujetos en los que se presentó recuperación funcional, se observó que el trasplante consistía en una masa de tejido localizada en la luz del III ventrículo, adherida por lo menos a una de sus paredes laterales. Las células que conformaban el trasplante eran neuronas y glía de apariencia normal.

Desde el punto de vista conductual, el trasplante de corteza occipital fetal indujo reorganización del patrón temporal de ingestión de agua a partir de la cuarta semana post-trasplante. Dicha reorganización consistió en un aumento progresivo del porcentaje nocturno de ingestión de agua. Estos resultados se ilustran en la tabla V. Las observaciones anteriores se corroboraron con el análisis de varianza y la prueba de T, los cuales demostraron diferencias estadísticamente significativas a partir de la 5a. semana post-trasplante ($F = 13.71 = 5.29; P < 0.05$). dichos analisis no mostraron diferencias en la ingestión de agua diurna y la

nocturna en los mismos sujetos antes de recibir el transplante ($F = 13.7; T = 0.96; P > 0.05$).

TABLA V. PORCIENTOS DE NOCTURNALIDAD DE INGESTA DE AGUA ANTES Y DESPUES DEL TRANSPLANTE DE CORTEZA OCCIPITAL EN SUJETOS CON LESION DEL NSQ.

SEMANTAS POST LESION						
	1a.	2a.	3a.	4a.	5a.	6a.
X	58.15	57.12	57.55	56.81	53.12	48.25
± DE	7.32	12.74	9.6	5.24	8.9	14.24
SEMANTAS POST-TRANSPLANTE						
	1a.	2a.	3a.	4a.	5a.	6a.
X	54.47	48.68	48.5	60.89	64.28	74.19*
± DE	13.84	9.67	8.37	5.6	7.6	13.33

* $P < 0.01$ Respecto a la ingestión de agua diurna.

El ritmo diurno inducido por los transplantes de corteza occipital fetal se sincronizó con el ciclo Luz-Obscuridad. En la mayoría de los casos el inicio del período de mayor ingestión de agua coincidió con el inicio de la

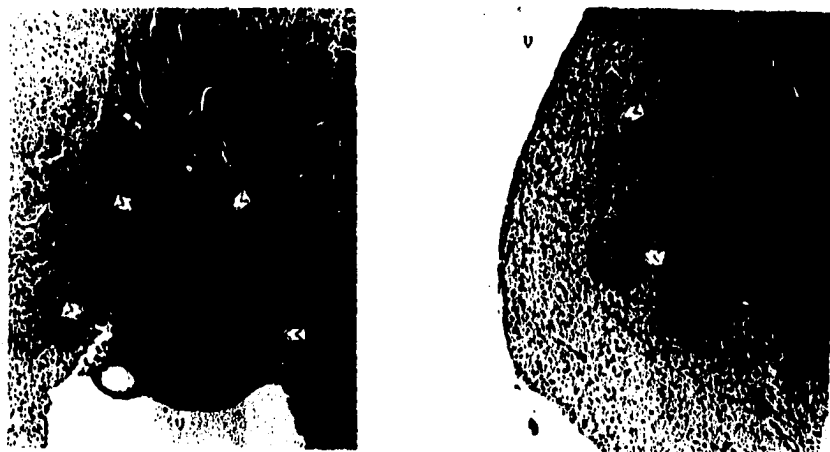


Figura 15. Cortes coronales de dos transplantes de Corteza fetal al III Ventrículo. El transplante ocupa una porción de la luz del ventrículo (V). En el ejemplo de la izquierda el transplante se fusionó con el techo y las paredes laterales del ventrículo, se puede apreciar una interfase de células gliales en el lado derecho del transplante pero no en el lado izquierdo. En el ejemplo de la derecha el transplante se adhirió a una pared del ventrículo sin que se observe ninguna barrera celular entre ambos. Las flechas indican el límite del transplante. En ambos casos se distinguen gran cantidad de cuerpos celulares neuronales. No existen diferencias entre la apariencia de estas células y las del hipotálamo adyacente.

fase de obscuridad, el fin de este periodo ocurría hacia el inicio de la fase de luz.

En el análisis de densidad espectral se observó en la sexta semana post-transplante la recuperación del componente circádico ($t = 24.00$ hrs.). En forma similar a lo observado en el caso de los trasplantes hipotálamicos, los trasplantes corticales no eliminaban los componentes ultradianos que aparecían después de la lesión del NSQ. La intensidad del componente circádico inducido por los trasplantes fue menor al componente circádico de los sujetos control, pero significativamente mayor al residuo de dicho componente observado en los mismos sujetos antes de recibir el transplante (tabla VI). Respecto al componente circádico inducido por los trasplantes hipotalámicos, el inducido por los trasplantes corticales fue ligeramente mayor (comparense tablas IV y VI).

TABLA VI. VALOR DE LA DENSIDAD ESPECTRAL ANTES Y DESPUES DEL TRANSPLANTE DE CORTEZA OCCIPITAL FETAL AL III VENTRICULO.

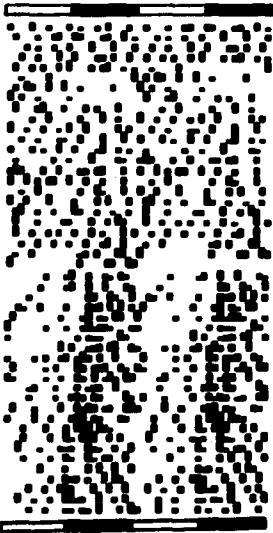
	CONTROL	LESION	TRANSPLANTE
\bar{X}	0.35	0.07 *	0.27 **
DE	± 0.07	± 0.03	± 0.08

* $P < 0.001$ Respecto al control.

** $P > 0.05$ Respecto al control.

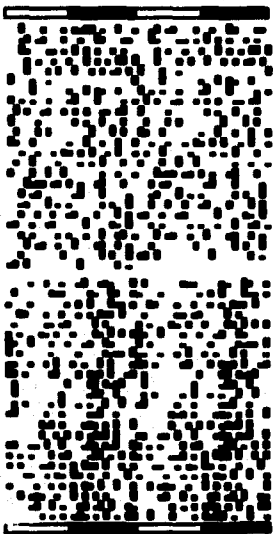
En terminos generales, el transplante de Hipotálamo fetal y el de Corteza Occipital fetal indujeron efectos

A



LESION

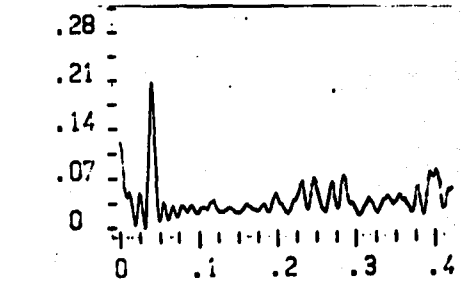
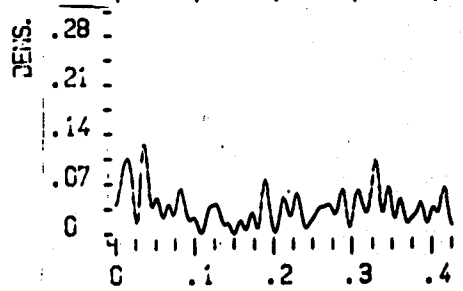
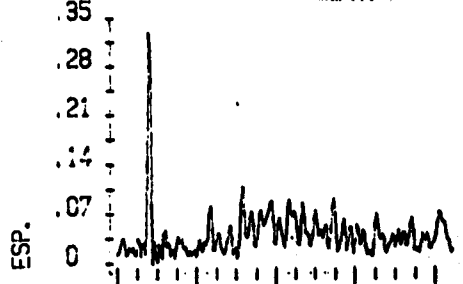
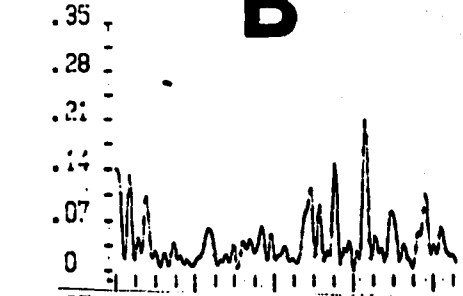
TRANPLANTE



LESION

TRANPLANTE

B



CICLOS / HORA

Figura 16. A: Registros de recipientes que recibieron trasplante de corteza al III ventrículo. La 6a. semana post-lesión se gráfica en la porción superior, las flechas indican el registro a partir de la 3a. semana post-trasplante. Se observa que a partir de la 4a. semana comienza a reorganizarse el patrón de ingesta de agua. B: El análisis de densidad espectral indica la reaparición del componente circádico después del trasplante cortical, manteniéndose además los componentes ultradianos.

conductuales similares, cuando los sujetos se registraron en condiciones de Luz-Oscuridad.

En la figura 15 se presentan fotografías de cortes coronales del trasplante, donde pueden observarse algunas características de las células que los componen. En la figura 16a se ilustran las graficas dobles de sujetos con trasplante de corteza occipital que presentaron recuperación del patrón temporal de ingestión de agua. La figura 16b ilustra el análisis de densidad espectral de algunas porciones de los datos presentados.

5. EFECTO DEL TRASPLANTE DEL HIPOTALAMO FETAL A LA CORTEZA OCCIPITAL.

Estos trasplantes no indujeron cambios en el patrón temporal de ingestión de agua establecido después de la lesión del NSQ. Es decir, los animales así transplantados se mantuvieron arrítmicos durante el resto del experimento. En el estudio histológico se observó el tejido transplantado localizado en la cavidad preparada en la corteza occipital. En 4 de los 6 sujetos el trasplante se adhirió al borde



Figura 17. Cortes coronales de tres transplantes (T) de hipotálamo fetal a la corteza occipital. Salvo por las conexiones vasculares el transplante se encontraba aislado del cerebro receptor (Izquierda arriba y abajo). En algunos casos el transplante se adhirió a la corteza occipital (CX) adyacente (Derecha). En todos los casos se observan abundantes células que se organizaron formando un agregado separado de una zona en la que se observan abundantes fibras. En el ejemplo inferior de la izquierda se observa un notable crecimiento del colículo superior (CS).

medial de la corteza occipital contigua. En los dos casos restantes el transplante no establecía contacto con el cerebro receptor mas que por vía sanguínea. El tejido transplantado estaba formado por neuronas y células gliales de apariencia normal.

Conductualmente, despues del transplante no se observaron modificaciones en el porcentaje nocturno de la ingestión de agua. El análisis de varianza y la prueba de T no mostraron diferencias significativas entre el porcentaje de la conducta en la fase diurna y la nocturna ($F = 1.05$; $T = 0.84$; $P > 0.05$).

El análisis de densidad espectral demostró la ausencia del componente circádico en la 6a. semana post-transplante. El valor del residuo de dicho componente no fue significativamente distinto antes ó despues de realizado el transplante. Dichos datos se resumen en la tabla VII.

TABLA VII. VALOR DE LA DENSIDAD ESPECTRAL ANTES Y DESPUES DEL TRANSPLANTE DE HIPOTALAMO FETAL A LA CORTEZA OCCIPITAL FETAL.

	CONTROL	LESION	TRANSPLANTE
\bar{X}	0.35	0.02 *	0.05 *
DE	± 0.07	± 0.01	± 0.03

* $P < 0.001$ Respecto al control.

En la figura 17 se ilustran cortes coronales de los transplantes, en los que puede observarse el arreglo de las células en forma similar a las de la corteza occipital del receptor. En la figura 18a se ilustra la gráfica doble

A



LESION

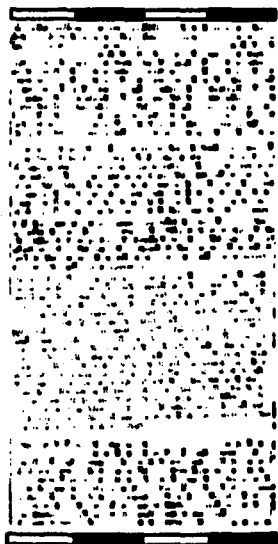
<<<<

TRANSPLANTE

NSG >>> CX

ESP.

DES.

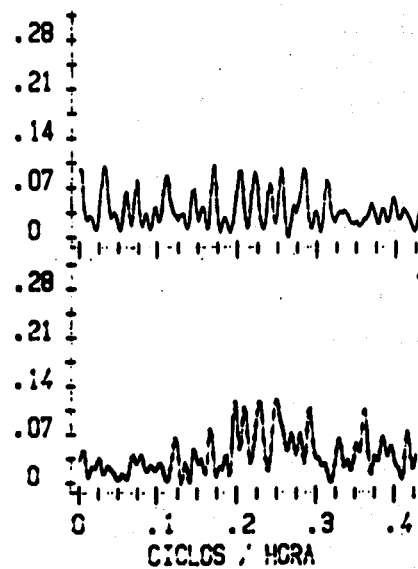
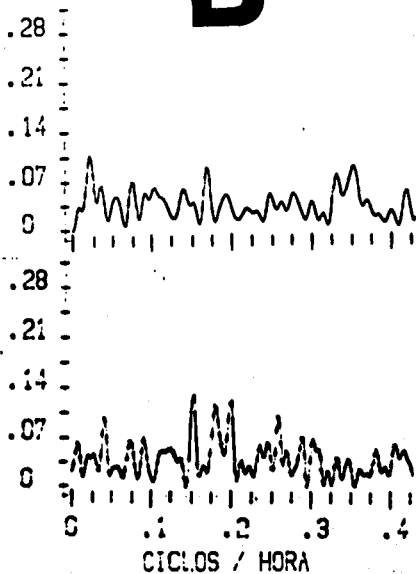


LESION

<<<<

TRANSPLANTE

B



ESTE LIBRO NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Figura 18. A: Registros de dos sujetos que recibieron trasplantes de hipotálamo a la corteza. La 6a. semana post-lesión se grafica en la porción superior, las flechas indican el registro a partir de la 3a. semana post-trasplante. La arritmia circádica en estos sujetos persistió aún en la 6a. semana post-trasplante. B: No se observan cambios significativos en los componentes del rango circádico de la gráfica de densidad espectral, después de realizado el trasplante.

del registro de un sujeto que recibió estos trasplantes. En la figura 18b se presenta la gráfica de densidad espectral correspondiente a esos datos.

6. EFECTOS DE LA ILUMINACION CONTINUA.

Cuando los animales no lesionados se sometieron al patrón de iluminación continua se observó que el ciclo de ingestión de agua se alargaba, dicho fenómeno corresponde al corrimiento espontáneo de un ritmo circádico (free run). Lo anterior se manifestaba en la gráfica doble como un retraso progresivo en el inicio del período de mayor ingestión de agua respecto a la hora local, que se repetía en cada ciclo sucesivo. Hacia la tercera semana en estas condiciones algunos animales presentaron atenuación del ritmo. Esto, se manifestó en el aumento del porcentaje de ingestión de agua durante el día "subjetivo". En el análisis de densidad espectral se observó alargamiento del período del componente circádico ($t = 24.7$ hrs.).

En los sujetos con lesión del NSQ no se observaron

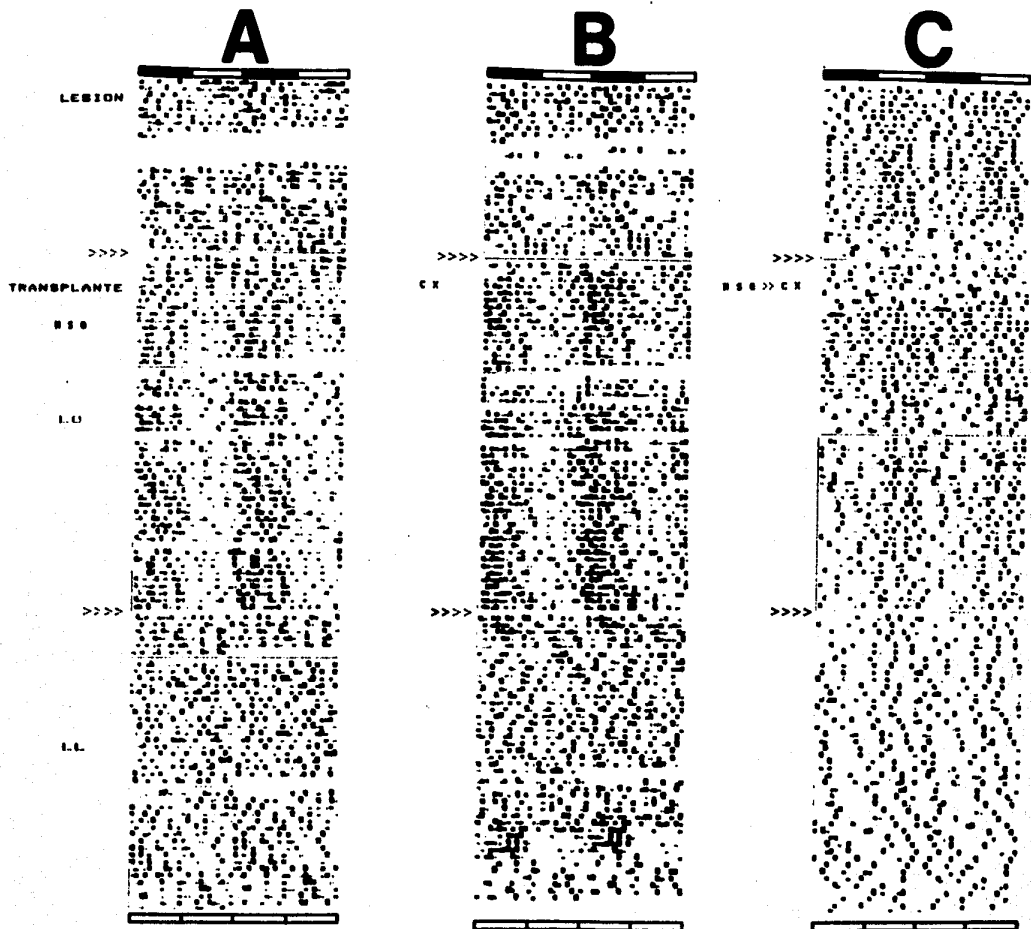


Figura 19. Efecto de la luz continua sobre el patrón temporal de ingesta de agua. En la porción superior se grafican las 3 ultimas semanas post-lesion, la flecha superior indica el momento del trasplante, la flecha inferior indica el cambio de LD a LL. A: Sujeto con trasplante hipotalámico al III V; B: Sujeto con trasplante cortical al III V; C: Sujeto con trasplante hipotalámico a la corteza. Los trasplantes colocados en el III V inducen recuperación del ritmo diurno de ingesta de agua durante LD, el cual desaparece al colocar a los sujetos en LL. El trasplante colocado en corteza no induce cambios en el patrón de ingesta de agua inducido por la lesión.

cambios en el patrón temporal de ingestión de agua como resultado de la iluminación continua. En el análisis de densidad espectral se observó que los residuos del componente circádico desaparecían por completo durante esta fase.

En los sujetos lesionados que recibieron trasplante de hipotálamo fetal al III ventrículo, la exposición a la luz continua produjo desorganización inmediata del patrón de ingestión de agua inducido por el trasplante. En el análisis de densidad espectral se observó que los componentes circádicos desaparecían. El valor del residuo de dichos componentes fue igual al valor previo al trasplante ($X = 0.05 \pm 0.02$).

En los sujetos lesionados que recibieron trasplante de corteza occipital fetal al III ventrículo, la exposición de la luz continua produjo desorganización inmediata del patrón de ingestión de agua inducido por el trasplante. En el análisis de densidad espectral se observó que los componentes circádicos desaparecían. El valor de dicho residuo fue similar al valor previo al trasplante ($X = 0.03 \pm 0.02$).

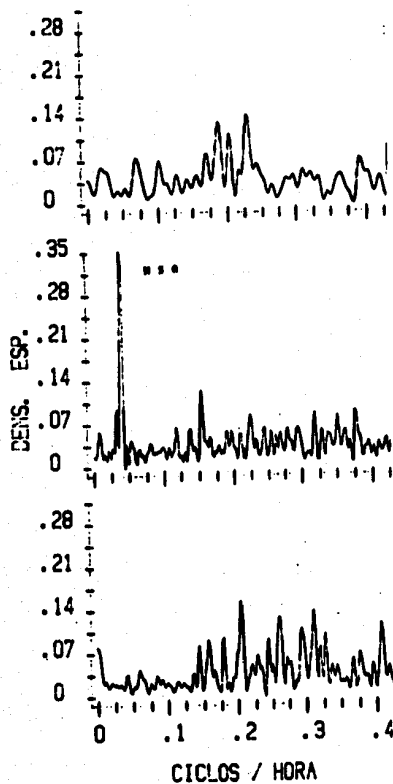
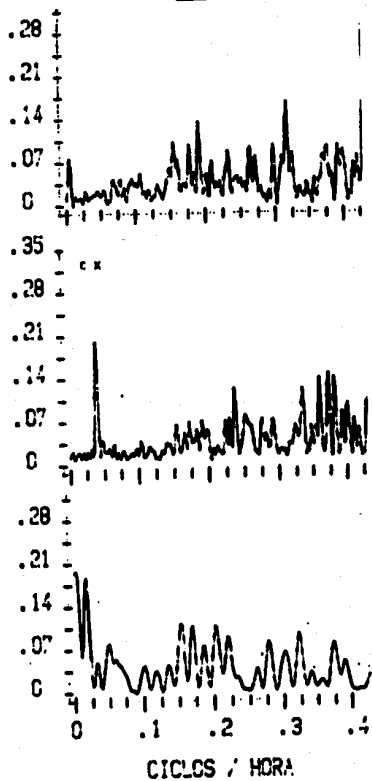
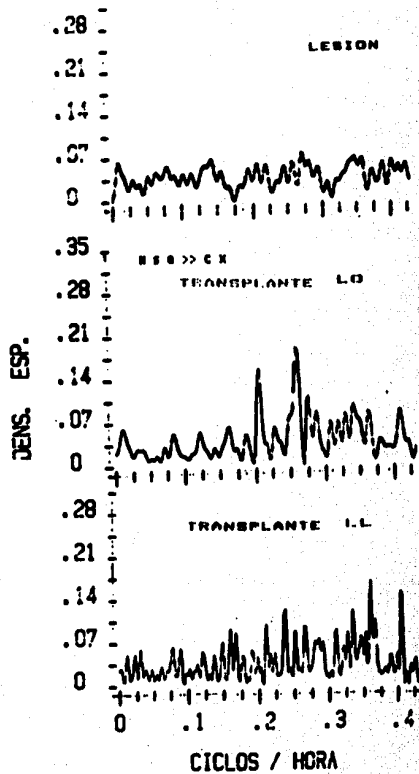
A**B****C**

Figura 20. Graficas del análisis de densidad espectral de los sujetos cuyos registros se muestran en la figura anterior. Se observa que en luz continua desaparece el componente circádico inducido por los trasplantes de hipotalamo (A) o corteza (B) al III V. El trasplante de Hipotálamo a la corteza (C) no induce cambios en el componente circádico.

En aquellos sujetos que recibieron trasplante de hipotalamo fetal en corteza occipital, la iluminación continua no indujo cambios en la conducta. El análisis de densidad espectral demostró que el residuo del componente circádico era similar al observado en las fases anteriores ($\bar{X} = 0.06 \pm 0.03$). Los datos anteriores se indican en la tabla VIII.

TABLA VII. VALOR DE LA DENSIDAD ESPECTRAL EN LOS DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTALES SOMETIDOS A LUZ CONTINUA.

	CONTROL	LESION	TRANSPLENTE		A LA CORTEZA HIPOTALAMICO
			AL III VENTRICULO HIPOTALAMICO	CORTICAL	
\bar{X}	0.24	0.02 *	0.05 *	0.03 *	0.06 *
DE	± 0.03	± 0.01	± 0.02	± 0.02	± 0.03

* $P < 0.001$ Respecto al control.

En la figura 19 se ilustra el efecto de la iluminación continua sobre el patrón temporal de ingestión de agua en los distintos grupos estudiados. La figura 20 ilustra el análisis espectral de algunos segmentos de los resultados presentados en la figura anterior.

7. EFECTOS DE LA OBSCURIDAD CONTINUA.

En los animales no lesionados, aquellos con lesión del NSQ y aquellos que recibieron transplantes de hipotálamo fetal en la corteza occipital, el efecto de la obscuridad continua fue básicamente el mismo que el de la iluminación continua. El período de oscilación en los controles no lesionados fue mayor que el observado durante el ciclo Luz-Obscuridad y menor que durante la iluminación continua ($t = 24.5$ hrs.). Además, en estos sujetos el ritmo no se atenuó durante las 8 semanas en que se mantuvieron en obscuridad, lo cual contrasta con lo observado en luz continua.

En los sujetos que recibieron transplante de hipotálamo fetal en el III ventrículo, la obscuridad continua produjo cambios en la longitud del ciclo de ingestión de agua inducido por el transplante. Dicho fenómeno corresponde al corrimiento espontáneo de un ritmo circádico. En la gráfica doble lo anterior se manifestó como un retraso progresivo en el inicio del período de mayor ingestión de agua en cada ciclo, con respecto a la hora local. En un caso se observó que el inicio de dicho período se adelantaba con cada ciclo. En el análisis de densidad espectral el cambio en el período del ciclo se observó en el desplazamiento del componente circádico hacia la izquierda de la gráfica ($t = 24.3$ hrs.), excepto en el caso mencionado anteriormente en el que el componente circádico se desplazó a la derecha de la gráfica ($t = 23.5$ hrs.). La intensidad del componente circádico disminuyó en relación al valor observado durante Luz-

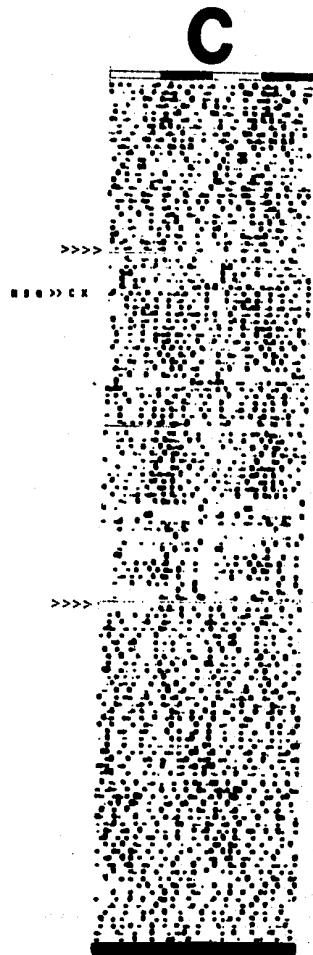
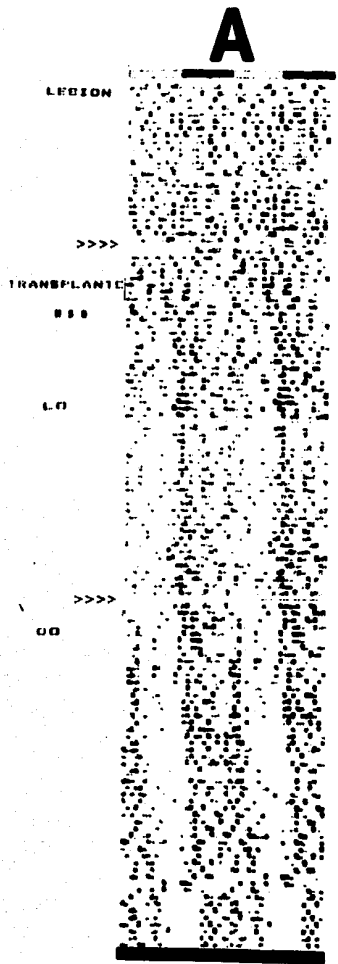


Figura 21. Efecto de la obscuridad continua sobre el patrón temporal de ingesta de agua. Comentarios a la gráfica igual que en la figura 19. El trasplante de Hipotálamo al III V (A) induce en LO un ritmo circádico, el cual persiste en corrimiento libre cuando al sujeto se le coloca en obscuridad continua (OO). Por otra parte, el trasplante de corteza al III V (B) induce durante LO un ritmo diurno, el cual desaparece cuando el sujeto se coloca en OO. El trasplante de Hipotálamo a corteza (C) no induce cambios en la arritmia circádica inducida por la lesión del NSQ.

Obscuridad ($X = 0.14 \pm 0.03$). Sin embargo, la prueba T demostró diferencias significativas con respecto al valor observado en luz continua ($T = 8.9$; $F < 0.001$).

En el caso de los sujetos que recibieron trasplante de corteza occipital fetal al III ventrículo, la obscuridad continua produjo desorganización inmediata del patrón temporal de ingestión de agua inducido por el trasplante. El análisis de densidad espectral demostró la pérdida del componente circádico, cuyo residuo tenía valor similar al previo al trasplante y al observado durante la iluminación continua ($X = 0.03 \pm 0.01$). Lo anterior indica claramente diferencias en el efecto inducido por trasplantes hipotálamicos respecto al inducido por trasplantes corticales, ambos colocados en el III ventrículo. Estas diferencias se manifiestan exclusivamente cuando los sujetos se registran en obscuridad continua. Los datos anteriores se resumen en la tabla IX.

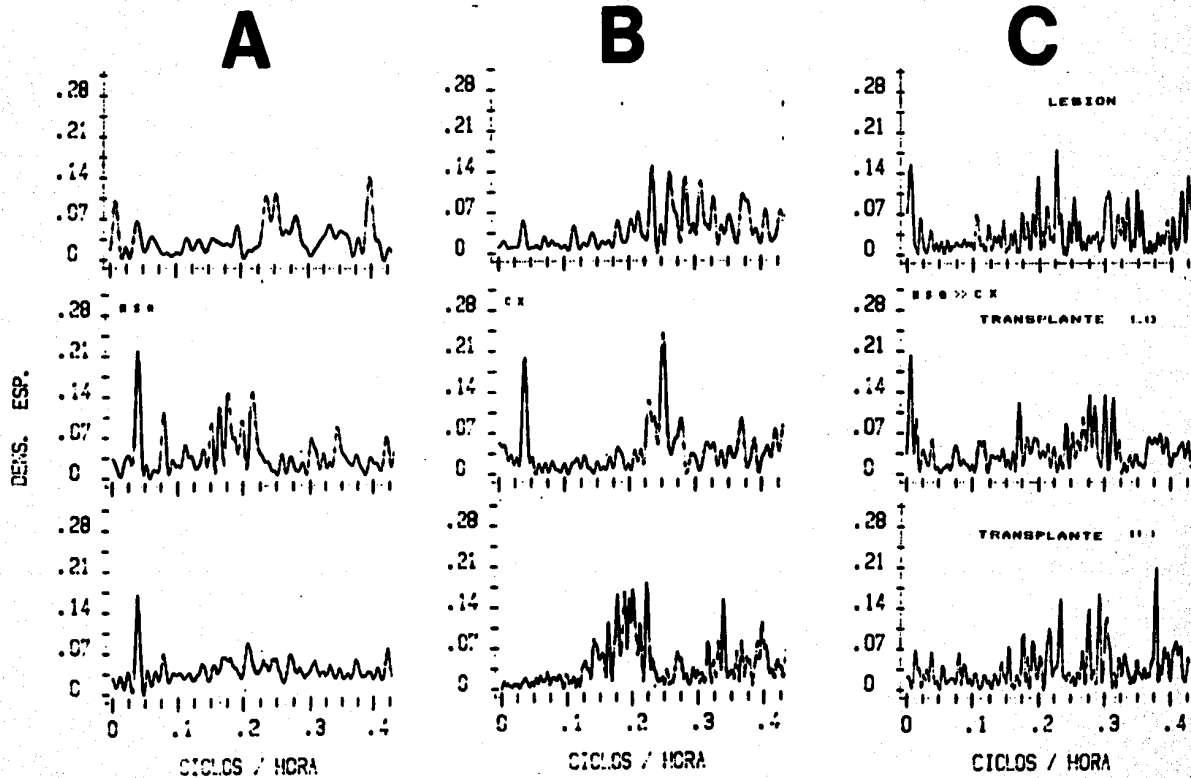


Figura 22. Gráficas del análisis de densidad espectral de los registros que se muestran en la figura anterior. Se observa que en OO el componente circádico se mantiene en el sujeto con transplante Hipotálamico al III V (A), pero no el sujeto con transplante de corteza al hipotálamo (B), a pesar de que en LO ambos sujetos presentaron un componente circádico importante. Se confirma que no aparecen componentes circádicos después del transplante de hipotálamo a la corteza ni en LO ni en OO.

TABLA IX. VALOR DE LA DENSIDAD ESPECTRAL EN LOS DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTALES SOMETIDOS A OSCURIDAD CONTINUA.

	CONTROL	LESION	TRANSPLANTE		
			AL III VENTRICULO HIPOTALAMICO	A LA CORTEZA HIPOTALAMICO	
X	0.26	0.04 *	0.14 **	0.03 *	0.04 *
DE	± 0.05	± 0.02	± 0.03	± 0.01	± 0.03

* $P < 0.001$ Respecto al control.

** $P > 0.05$ Respecto al control.

En la figura 21 se ilustra el efecto de la obscuridad continua en el patrón temporal de ingestión de agua en los distintos grupos estudiados. La figura 22 ilustra el análisis de densidad espectral de algunos segmentos de los resultados presentados en la figura anterior. Los resultados del experimento se resumen en la tabla X.

TABLA X.

RESUMEN DE LOS EFECTOS DE LA ILUMINACION SOBRE EL PATRON DE INGESTA DE AGUA INDUCIDO POR TRANSPLANTES DE TEJIDO CEREBRAL

GRUPO	CONDICIONES DE ILUMINACION		
	L - O	L - L	O - O
TxNSQ	Se restablece ritmicidad	Se pierde ritmicidad	Se induce corrimiento espontaneo del ritmo
TxCx	Se restablece ritmicidad	Se pierde ritmicidad	Se pierde ritmicidad
TxNSQ-Cx	No induce cambios (persiste arritmicidad por lesi3n).		

Abreviaturas:

- TxNSQ = Transplante de NSQ al III ventrículo
- TxCx = Transplante de corteza occipital al III ventrículo
- TxNSQ-Cx = Transplante de NSQ a la corteza occipital
- L - O = Ciclo luz-obscuridad 12 x 12
- L - L = Luz continua
- O - O = Obscuridad continua

IV. DISCUSION

Estudios previos realizados por nuestro grupo demostraron que el transplante del hipotálamo fetal al III ventrículo de ratas con lesión del NSQ era capaz de inducir recuperación del ritmo diurno de ingestión de agua (Drucker-Colín y col., 1984). Simultáneamente un grupo japonés publicó observaciones similares referentes al ritmo de actividad locomotora en ratas (Sawaki y col., 1984). Los resultados de este experimento confirman dichas observaciones. Demuestran además que el ritmo en la ingestión de agua inducido por el transplante de hipotálamo fetal es un ritmo circádico endógeno, ya que durante obscuridad continua el ritmo persiste en corrimiento espontáneo.

La reaparición del ritmo circádico de ingestión de agua en los sujetos transplantados podría deberse a alguno de los siguientes procesos: I) Lesiones extensas pero incompletas del NSQ; II) En el caso de lesiones completas de dicho núcleo, a fenómenos de plasticidad del sistema nervioso del receptor que no dependen de la presencia del transplante, ó III) en el caso de lesiones completas del NSQ, a influencias del transplante sobre el receptor. A continuación se discutirán estas posibilidades por separado.

I) Lesión incompleta del NSQ. Recientemente se ha reportado que lesiones parciales del NSQ interrumpen el ritmo de ingestión de agua hasta por 10 semanas después de la cirugía, y que posteriormente es posible observar

reorganización espontánea del ritmo circádico (Prosser y Satinoff, 1985). Debido a que con la tinción utilizada no es posible demostrar fehacientemente la destrucción completa del NSQ, no se puede descartar a priori la posibilidad de lesiones extensas pero incompletas del NSQ. Consideramos sin embargo, que en base a la evidencia que se presenta a continuación es posible descartar dicha posibilidad. Nuestros resultados indican que:

a) Ninguna de las ratas que presentaron interrupción continua del ritmo durante más de 5 semanas, registradas bajo el ciclo de luz-obscuridad, y que no recibieron transplantes, presentó recuperación espontánea del ritmo, durante los 6 meses posteriores a la lesión en que se registró a los sujetos.

b) Todos los animales transplantados presentaron interrupción inmediata del ritmo cuando se sometieron a iluminación continua. En el caso de un ritmo generado en una porción del NSQ no lesionada, podría esperarse la atenuación gradual del ritmo en forma similar a lo observado en los sujetos no lesionados.

c) En los casos en los que no se identificó el trasplante, ó en los que se observó con datos evidentes de necrosis ó con escasa supervivencia neuronal, se pudo comprobar que no se presentaba recuperación del ritmo circádico, durante los 6 meses posteriores a la lesión en que se registró a los sujetos.

II) Activación de procesos de plasticidad del cerebro del receptor como respuesta a la lesión. Se ha reportado que

la desorganización del ritmo circádico de actividad locomotora por lesión del NSQ se mantiene por toda la vida del sujeto, aún cuando la lesión se haya realizado algunos días después del nacimiento (Mosko y Moore, 1978). En términos generales, el cerebro del recién nacido es capaz de compensar alteraciones funcionales inducidas por lesiones con mayor facilidad y eficiencia que el cerebro de un sujeto adulto (ver referencias 1 a 7 en Mosko y Moore, 1978). Esto se explica como el reflejo de una mayor plasticidad del cerebro en desarrollo. Con estos antecedentes, el experimento de Mosko puede interpretarse como una demostración de que el sistema circádico de la rata no posee mecanismos de plasticidad que compensen los efectos de la lesión del NSQ.

III) Influencias del trasplante sobre el cerebro del receptor. Los datos presentados para descartar la posibilidad de lesiones incompletas indican, que para que se observe la recuperación del ritmo circádico es necesaria la presencia del trasplante de hipotálamo fetal en el III ventrículo del receptor. Esta conclusión es apoyada, además, por las siguientes observaciones:

a) Persistencia de la arritmicidad en los sujetos con trasplante de hipotálamo fetal a la Corteza Occipital.

b) Inducción de un ritmo diurno en los sujetos con trasplante de Corteza Occipital fetal al III ventrículo, diferente del efecto inducido por el trasplante de Hipotálamo fetal a la misma región del receptor (Estos

resultados se discuten con mas detalle posteriormente).

En conclusión, el establecimiento del ritmo circádico en los sujetos que recibieron el trasplante de Hipotálamo fetal en el III ventrículo, puede atribuirse a la presencia del trasplante, y no a lesiones incompletas o a procesos de plasticidad del cerebro del receptor.

Con respecto a los efectos del trasplante sobre la conducta de los sujetos transplantados, estos podrían deberse a: i) La presencia misma del trasplante, ó; ii) cambios en el cerebro del receptor inducidos por el trasplante, pero que una vez establecidos no requieren la presencia de este ultimo. En el presente estudio, sin embargo, no se realizó ninguna manipulación que nos permitiera distinguir entre estas posibilidades. Esto se lograría retirando el trasplante una vez restablecido el ritmo circádico en los sujetos lesionados.

Dicho enfoque experimental ha sido empleado en la identificación del marcapasos circádico en el gorrión. En esos experimentos se transplantó la glandula pineal a la camara ocular anterior de sujetos arrítmicos por pinealectomia previa. Se observó que algunos días despues del trasplante el ritmo circádico reaparecia. La posterior extirpación del ojo que contenia el trasplante indujo nuevamente pérdida dicho ritmo (Zimmerman y Menaker, 1975).

En el caso del presente estudio la extracción del trasplante es sumamente dificil desde el punto de vista técnico, sobre todo si se pretenden utilizar técnicas convencionales como succión o lesión electrolítica. Una

probable solución a este problema, sería la inducción de rechazo al tejido transplantado por el sujeto receptor. Este enfoque a sido usado con éxito para revertir los efectos del trasplante de sustancia nigra fetal, en sujetos con lesión unilateral de la vía nigro-estriatal (Freed, 1983; ver aspectos inmunológicos de los trasplantes cerebrales, pag 31).

Otro enfoque para determinar si el ritmo circádico observado en los sujetos que recibieron el trasplante de hipotálamo en el III ventrículo se origina en el trasplante o en el sujeto receptor, consiste en determinar si dichos trasplantes, además de inducir corrimiento espontaneo en oscuridad continua, imponen la fase y/ó el periodo que presentaba el donador antes del trasplante, en el ritmo que presenta posteriormente el sujeto receptor. Si estos parámetros correspondieran a los que presentaba el sujeto receptor antes de presentar arritmicidad por efecto de la lesión, indicaría que el oscilador circádico se localiza en el receptor. En este caso el trasplante funcionaría acoplado el oscilador con sus mecanismos efectores.

Este tipo de experimentos se han realizado para identificar que funcionan como marcapasos circádicos, en el ganglio cerebroide de polillas (Truman y Riddford, 1979; Truman, 1972) y la mosca de la fruta (Handler y Kropopka, 1979), el lóbulo óptico de la cucaracha (Page, 1982) y la glándula pineal del gorrión (Zimmerman y Menaker, 1979). El trasplante de las estructuras mencionadas fue capaz de

restablecer la ritmicidad circádica en sujetos arritmicos que carecían de la estructura homóloga a la transplantada. En todos estos casos existían diferencias claras en el periodo ó la fase del ritmo circádico entre los sujetos donadores y los receptores. Estas diferencias permitieron establecer que el ritmo inducido se originaba en el transplante, ya que el ritmo presentaba las características del donador. En el presente estudio, no se estudio el ritmo circádico de los donadores, por lo que no es posible determinar si las características del ritmo circádico observado en los sujetos transplantados corresponden a las del donador o a las del receptor.

Es importante señalar que la realización de este tipo de experimentos en ratas, plantea algunos problemas, los cuales se derivan de que el tejido transplantado es de origen fetal. Hasta la fecha no se han realizado mediciones directas de ningún ritmo circádico fetal. Sin embargo, se ha reportado que la captación de 2-deoxiglucosa (2-DG) por el NSQ de fetos de rata y mono ardilla, presenta variaciones diurnas que persisten en condiciones de obscuridad constante (Reppert y Schwartz, 1983; 1984a; 1984b). No obstante, no existe acuerdo sobre si esta variación la origina el sistema circádico materno o el fetal. Así pues, para realizar el experimento que discrimine entre el ritmo del donador y el del receptor en ratas, hay que determinar si la medición del ritmo circádico materno refleja en forma confiable el comportamiento del sistema circádico fetal. Posteriormente es necesario determinar si el sistema circádico fetal puede ser

influenciado por estímulos ambientales. Recientemente se ha reportado que en el criseto estas condiciones se cumplen. Es decir, el ritmo materno y el del producto se mantienen sincronizados aproximadamente hasta la edad del destete, y además es posible sincronizar el sistema circádico fetal a través del sistema materno (Davis y Gorski, 1986).

Evidencia indirecta que descarta al sujeto receptor como generador del ritmo circádico observado, nos la dan los resultados obtenidos con transplantes de la corteza occipital al III ventrículo (ver más adelante). Estos sugieren que la inducción del ritmo circádico en los sujetos lesionados es un fenómeno específico del trasplante de hipotálamo fetal, ya que el trasplante cortical no restablece un ritmo circádico sino un ritmo diurno, el cual sigue en forma pasiva el ciclo de iluminación ambiental.

En el caso de que el oscilador que genera el ritmo circádico observado en oscuridad continua en los animales con transplantes hipotalámicos se localizara en el tejido transplantado, la hipótesis de que el NSQ fetal fuese el oscilador dentro del trasplante resulta sumamente atractiva. A este respecto sería necesario demostrar la presencia del NSQ en los transplantes realizados. En base a las tinciones empleadas en este estudio, no es posible resolver este punto. Sin embargo, existen datos en la literatura que nos permiten suponer la presencia del NSQ fetal en el bloque transplantado. Recientemente se ha demostrado que el trasplante de hipotálamo fetal anterior colocado en el

sistema ventricular de la rata contiene al NSQ (Roer y col., 1985; Wiegand y Gash, 1985). En dichos estudios la identificación del NSQ se realizó en base a las características de tinción inmunocitoquímica para la vasopresina y polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) previamente descritos (Dierick y Vandesande, 1979; Card y col., 1981). La técnica empleada para realizar los trasplantes hipotalámicos en los trabajos mencionados es similar en todos aspectos a la empleada en nuestros experimentos, por lo que la presencia del NSQ en los trasplantes hipotalámicos realizados es probable. Por otra parte, en ningún otro núcleo hipotalámico se ha reportado la presencia de un oscilador autosostenido además del NSQ (Inouye, 1983; Kurumy y Kawamura, 1985).

En base a lo expuesto anteriormente, se propone que el ritmo circádico que se observa en oscuridad continua, podría ser generado por el NSQ presente en el trasplante hipotalámico, el cual funcionaría como un oscilador endógeno.

La arritmicidad inducida por la luz continua en los sujetos con trasplantes del NSQ, podría ser debida a una mayor susceptibilidad de las células del trasplante a los efectos de la luz, mediados a través de la vía visual. En animales intactos se ha observado que la exposición por períodos largos de luz continua atenúa o interrumpe diversos ritmos circádicos, sobre todo en roedores nocturnos (Aschoff, 1979; Eastman y Rechtschaffen, 1983; Honma e Hiroshige, 1978).

La ausencia de efectos conductuales inducidos por los trasplantes de hipotálamo fetal a la corteza occipital, indica que la localización del trasplante es importante para la inducción de los efectos. Esto puede interpretarse como la necesidad de que el trasplante reciba y emita conexiones con sitios específicos del sistema nervioso del receptor. El trasplante podría recibir información visual a través de la corteza occipital del receptor, principalmente acerca de la iluminación ambiental. Si este es el caso, se puede sugerir que las aferencias del sistema visual al trasplante no son suficientes para inducir efectos conductuales.

El que trasplantes corticales fetales al III ventrículo sean capaces de inducir recuperación del ritmo de ingestión de agua fue un resultado inesperado. Esta observación puede explicarse en base a las siguientes posibilidades:

1) El tejido cortical de 17 días de gestación está poco diferenciado, por lo que podría reorganizarse de acuerdo a las influencias del microambiente que lo rodea. Es necesario realizar estudios morfométricos detallados para probar esta hipótesis.

2) El efecto observado con el trasplante de la corteza occipital al III ventrículo podría deberse a un proceso que no depende de las características de citoarquitectura del tejido transplantado, sino más bien de sustancias presentes en el tejido fetal tales como "factores de crecimiento", los cuales podrían modificar la respuesta del tejido receptor a la lesión producida. Esta posibilidad se basa en la

observación reportada por Bjorklund y colaboradores, respecto a que los trasplantes de tejido fetal inducen aumento en la velocidad de crecimiento de fibras cortadas (Bjorklund y Stenevi, 1979) y además, sirven como un puente a través del cual estas fibras pueden reinervar un órgano blanco (Kromer, Bjorklund y Stenevi, 1980). La lesión del NSQ destruye también las terminales de las fibras de la vía retino-hipotalámica descrita por Moore y Lenn (1972). El trasplante podría actuar induciendo el brote axonal de estas fibras, las cuales crecerían e inervarían tanto el trasplante como áreas adyacentes del hipotálamo del receptor. Sería a través de esta nueva conexión retino-hipotalámica que se induciría la recuperación.

El que las ratas con trasplante de corteza regresaran a la arritmicidad cuando se colocaban en luz u oscuridad continua, indica que dicho tejido no contiene un oscilador endógeno, lo cual implica que el efecto observado bajo el ciclo luz-oscuridad es un fenómeno pasivo inducido por dicho ciclo sobre el ritmo de ingestión de agua (Enmascaramiento). Este fenómeno de enmascaramiento parece depender de la presencia del trasplante, ya que no se observa ni en los sujetos con lesión que no se transplantaron, ni en aquellos que recibieron el trasplante pero que no se logró localizar éste en la histología. El fenómeno de enmascaramiento en sujetos normales consiste en la imposición de la fase y el período de un ciclo ambiental sobre la expresión de cualquier ritmo circádico. Al cesar la influencia del ciclo ambiental

sobre el sujeto, el ritmo circádico en estudio vuelve a expresar la fase y el período que lo caracterizaban antes ser expuesto al estímulo enmascarador. Esto indica que dicho estímulo afecta al sistema circádico del sujeto a un nivel distal al oscilador circádico (el cual no es afectado), y a nivel proximal al mecanismo efector. El efecto del trasplante de corteza fetal al III ventrículo, puede ser explicado por un efecto de enmascaramiento del ciclo de luz obscuridad sobre el sistema circádico de la rata. Estos sujetos carecen del oscilador endógeno, por lo que al desaparecer el ciclo ambiental desaparece el ritmo conductual. Dicho efecto podría estar mediado por la reconexión entre la retina y el hipotálamo inducida por el trasplante. Si este es el caso, dicha vía podría ser demostrada por autorradiografía del transporte axonal anterógrado de aminoácidos radioactivos.

Aunque en un principio se propuso que en la rata intacta la vía retinohipotalámica proyectaba exclusivamente al NSQ (Moore y Lenn, 1972), recientemente se ha descrito una segunda proyección hacia el hipotálamo lateral (Riley y col., 1981). Sin embargo, la mayoría (si no todos) los contactos sinápticos de esta proyección se observan dentro del tracto óptico. Debido a lo anterior, sería posible diferenciar entre dicha vía y una vía inducida por los trasplantes. La dependencia del efecto de enmascaramiento a la presencia del trasplante excluye el que otras vías visuales generen el fenómeno, pero no excluye su participación.

Como se mencionó en la introducción es muy poco lo que

se sabe acerca del mecanismo de acoplamiento entre el(los) oscilador(es) y los sistemas efectores. El ritmo circádico inducido por los trasplantes hipotalámicos y su sincronización por el ciclo luz-obscuridad, indican que de alguna forma la información de la retina afecta al oscilador circádico, y que dicho oscilador es capaz de influir sobre el sistema efector involucrado en el ritmo de ingestión de agua. Por otra parte, el efecto de enmascaramiento inducido por trasplantes de la corteza implica que de alguna forma la información de la retina afecta el sistema efector del ritmo de ingestión de agua. Si dichos efectos están mediados a través de conexiones anatómicas inducidas por los trasplantes, es factible que estas sean demostradas por las técnicas morfológicas adecuadas. El estudio de estas vías de acoplamiento nos ayudaría a identificar el sistema efector involucrado en el ritmo de ingestión de agua, y a trazar la vía de salida del oscilador del NSQ. En este respecto es necesario recalcar que en los estudios realizados con la técnica de trasplantes cerebrales en sistemas cuyas correlaciones anatomo-funcionales son mejor comprendidas, muestran que la reinervación del trasplante hacia el receptor sigue patrones específicos. De tal forma que hay una alta correlación en cuanto al área que inervaría el tejido transplantado si se dejara "in situ", y la que reinerva cuando es transplantado (Bjorklund y Stenevi, 1984). Concretamente, estudios inmunocitoquímicos de péptidos presentes en el NSQ de ratas normales, permitiría demostrar

fehacientemente: i) la destrucción completa del NSQ del receptor; ii) La presencia del NSQ en los trasplantes de hipotálamo fetal, y; iii) los sitios a los cuales proyectan las células del trasplante, que contengan los péptidos estudiados. A partir de este tipo de estudios sería posible plantear hipótesis de trabajo adicionales acerca de las probables vías de salida del oscilador hacia sus efectores.

V. CONCLUSIONES

1. La lesión bilateral del NSQ en ratas abole el ritmo de ingestión de agua, durante periodos de observación continua hasta de 6 meses posteriores a la lesión.
2. El trasplante del hipotálamo anterior de fetos de 17 días al III ventrículo de ratas con lesión del NSQ, es capaz de inducir un ritmo circádico en la ingestión de agua.
3. El oscilador que genera dicho ritmo circádico es más sensible a la influencia desestabilizadora de la luz con respecto al de los sujetos normales.
4. El efecto del trasplante de hipotálamo anterior depende del sitio en que se coloque, ya que los trasplantes colocados en la corteza occipital no inducen recuperación del ritmo de ingestión.
5. Es probable que el oscilador que genera el ritmo circádico sea el NSQ contenido en el bloque transplantado.
6. El trasplante de corteza occipital de fetos de 17 días al III ventrículo de ratas con lesión del NSQ, es capaz de inducir un ritmo diurno en la ingestión de agua, pero no un ritmo circádico.
7. Dicho ritmo depende de influencias del ciclo Luz oscuridad sobre el sistema circádico de las ratas lesionadas.

8. Dado que en ninguno de los sujetos con lesión completa de NSQ se observó recuperación espontánea del ritmo endógeno, y que los sujetos transplantados recuperaron el ritmo endógeno o la periodicidad diurna, es factible proponer que dicha lesión solo afectó al oscilador del sistema circádico, sin afectar los mecanismos efectores (de ejecución) involucrados en la ingestión de agua.
9. Proponemos que el estudio de las conexiones entre el transplante y el receptor pudieran ser de gran utilidad para conocer las vías eferentes del sistema y la manera en que se organizan a partir del transplante.

REFERENCIAS

- Aghajanian, G.K., Bloom, F.E. and Sheand, M.H. Electron microscopy of degeneration within the serotonin pathway of rat brain. Brain Res. 13: 266-273, 1969.
- Albers, H.E. and Ferris, C.F. Neuropeptide Y: Role in light-dark cycle entrainment of Hamster circadian rhythms. Neuroscience Letters 50: 163-168, 1984.
- Albers, H.E., Lydic, R., Gander, P.H. and Moore-Ede, M.C. Gradual decay of circadian drinking organization following lesions of suprachiasmatic nuclei in primates Neurosci. Lett. 27: 119-124, 1981.
- Albers, H.E., Ferris, C.F., Leeman, S.E. and Goldman, B.D. Avian pancreatic polypeptide phase shifts hamster circadian rhythms when microinjected into the suprachiasmatic region. Science 223: 833-835, 1984.
- Albers, H.E., Lydic, R., Gander, P. H. and Moore-Ede, M.C. Role of the suprachiasmatic nuclei in the circadian timing system of the squirrel monkey. I. The generation of rhythmicity. Brain Res. 300: 275-284, 1984.
- Altman, J. and Bayer, S.A. Development of the diencephalon in the rat. I. Autoradiographic study of the time of origin and settling patterns of neurons of the hypothalamus. Journal of Comparative Neurology 182: 945-971, 1978.
- Altobelli, R. Inesti cerebrali. Gazz. Int. Med. Chir. 17: 25-34, 1914.
- Alvarado-Mallart, R. M. and Sotelo, C. Differentiation of cerebellar anlage heterotopically transplanted to adult rata brain: A light and electron microscopic study. J. of Comp. Neurol. 212: 247-267, 1982.
- Arendash, G.W. and Gorski, R.A. Enhancement of sexual behavior in female ratas by neonatal transplantation of brain tissue from males. Science 217: 1276-1278, 1982.
- Aschoff, J. Circadian rhythms in man a self-sustained oscillator with aninherent frequency undishes human 24 hour periodicity. Science 148: 1427-1432, 1965.
- Aschoff, J. Circadian rhythms: influences of internal and external factors on the period measurement in constant conditions. Z. Tierpsychol. 49: 225-249, 1979.

- Aschoff, J. and Weber, R. Spontanperiodik des menschen bei
* ausschluss aller zeitgeber. Naturwissenschaften 49: 337-342, 1962.
- Backlund, E.O., Gransberg, P.O., Hamberger, B., Sedval, G., Seiger, A. and Olson, L. Transplantation of adrenal medullary tissue to Striatum in Parkinsonism. In: Neural Grafting in the mammalian CNS. (A. Bjorklund and U. Stenevi, Eds.), Elsevier, Amsterdam, 1985. pp 551 - 556.
- Barker. C.F. and Billingham, R.E. Immunologically privileged sites. Adv. Immunol. 25: 1-54, 1977.
- Beling, I. Uber das zeitgedachtnis der bienen. Z. Vergl. * Physiol. 9: 259-338, 1929.
- Bendat, J.S., and Piersol, A.G. Measurement and analysis of Random Noise. Wiley, New York, 1966.
- Berk, M.A. and Finkelstein, J.A. An autoradiographic determination of the efferent projections of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus. Brain Res. 226: 1-13, 1981.
- Bjorklund, A. and Stenevi, U. Reformation of the severed septo-hippocampal cholinergic pathway in the adult rat by transplanted septal neurones. Cell. Tiss. Restor. 185: 289-302, 1977.
- Bjorklund, A. and Stenevi, U. Regeneration of monoaminergic and cholinergic neurones in the Mammalian Nervous System. Physiol. Rev. 59:62-100, 1979.
- Bjorklund, A. Stenevi, U. and Svendgaard, N.A. Growth of transplanted monoaminergic neurones into the adult hippocampus along the perforant path. Nature 262:787-790, 1976.
- Bjorklund, A., Kromer, L.F. and Stenevi, U. Cholinergic reinnervation of the rat hippocampus by septal implants is stimulated by perforant path lesion. Brain Res. 173: 57-64, 1979a.
- Bjorklund, A., Schmidt, R.H., Stenevi, U. Functional reinnervation of the neostriatum in the adult rat by use of intraparenchymal grafting of dissociated cell suspensions from the sustantia nigra. Cell Tissue Res. 212: 39-45, 1980.
- Bjorklund, A., Stenevi, U., Dunnett, S.B. and Iversen, S.D. Functional reactivation of the deafferented neostriatum by nigral transplants. Nature 289: 497-499, 1981.

- Bjorklund, A., Segal, M. and Stenevi, U. Functional reinnervation of rat hippocampus by locus coeruleus implants. Brain Res. 170:409-426, 1979b.
- Block, M. and Zucker, I. Circadian rhythms of rat locomotor activity after lesions of the midbrain raphe nuclei. J. Comp. Physiol. 109: 235-247, 1976.
- Boer, G.J., Gash, D.M., Dick, L. and Schluter, N. Vasopressin neuron survival in neonatal brattleboro rats: Critical factors in graft development and innervation of the host brain. Neuroscience 15: 1087-1109, 1985.
- Bojis, R.M. Intra- and extra-hypothalamic vasopressin and oxytocin pathways in the rat. Pathways to the limbic system, medulla oblongata and spinal cord. Cold Spring Harbor Symposium Quantitative Biology 25: 249-256, 1978.
- Bragin, A.G. and Vinogradova, O.S. Homo- and Hetero-specific transplantation of embryonal central nervous system. Bull. Exp. Biol. Med. 10:486-489, 1981.
- Bunning, E. Circadian rhythms and the time measurement in * photoperiodism. Cold Spring Harbor Symposium Quant. Biol. 25: 249-256, 1960.
- Bunning, E. The physiological clock. English University Press, London. p. 258, 1973.
- Bunning, E. Fifty years of research on the wake of Wilhelm * Pfeffer. Ann. Rev. Plant. Physiol. 28: 1-22, 1977.
- Campbell, C.B.C. and Ramaley, J.A. Retinohypothalamic projections: Correlation with onset of the adrenal rhythm in infant rats. Endocrinol. 94: 1201-1209, 1974.
- Card, J.P. and Moore, R.Y. Ventral lateral geniculate nucleus efferents to the rat suprachiasmatic nucleus exhibit avian pancreatic polypeptide-like immunoreactivity. J. Comp. Neurol. 206: 390-396, 1982.
- Card, J.P., Brecha, N., Karten, H.J., Moore, R.Y. Immunocytochemical localization of vasoactive intestinal peptide-containing cells and processes in the suprachiasmatic nucleus of the rat: Light and electron microscopic analysis. J. Neurosci. 1: 1289-1303, 1981.
- Colman, D.R., Scalia, F. and Cabrales, E. Light and electron microscopic observations on the anterograde transport of Horse Radish Peroxidase in the optic pathway of mouse and rat. Brain Res. 102: 156-163, 1976.
- Daniel, W.W. BIOESTADÍSTICA: Base para el análisis de las ciencias de la salud., Ed. LIMUSA, México, 1983, pp.155-241.

- Daniloff, J.K., Low, W.C., Bodony, R.P. and Wells, J. Cross-species neural transplants of embryonic septal nucleito the hippocampal formations of adult rats. Anat. Rec. 14: 49A, 1983.
- Daniloff, J.K., Wells, J. and Ellis, J. Cross-species septal transplants: recovery of choline acetyltransferase activity. Brain Research 324 151-154, 1984.
- Darwin, C. On the power of movement in plants. Jhon Murray, London, 1880.
- Das, G.D. and Altman, J. Transplanted precursors of nerve cells: Their fate in the cerebellum of young rats. Science 173: 637-638, 1971.
- Das, G.D. and Hallas, B. H. Transplantation of Brain tissue in the brain of adult rats. Experientia 34: 1304-1306, 1978.
- Das, G.D., Hallas, B.H. and Das, K.G. Transplantation of brain tissue in brain of rat: I Growth characteristics of neocortical transplants of different ages. Amer. J. of Anat. 158: 135-145, 1980.
- Davis, F. and Gorski, R.A. Development of Hamster Circadian Rhythms: Prenatal Entrainment of the Pacemaker. J. of Biol. Rhythms 1: 77-89, 1986.
- De Candolle, A.P. Physiologie Vegetale vol. 2. Bechet Jeune, * Paris, 1832.
- De Mairan, J. Observation Botanique. Historie de L'Academie Royale des Sciences. 35-36, 1773.
- Del Conte, G. Einpflanzungen von embryohalem Gewebee ins Gehirn. Beitr. Pathol. Anat. Allg. Pathol. 42: 193-202, 1907.
- Duhamel DuMonceau, H.L. La Physique des Abres. HL Guerin and * LF Delatour, Paris, 1759.
- Drucker-Colin, R., Aguilar-Roblero, R., Garcia-Hernández, F., Fernández-Cancino, F. and Bermúdez-Rattoni, F. (1984). Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: Diurnal rhythm recovery of lesioned rats. Brain Res. 311: 353-357, 1984.
- Dunn, E.H. Primary and secondary findings in a series of ** attempts to transplant cerebral cortex in albino rat. J. of Comp. Neurol. 27: 565-582, 1917.

- Dunnett, S.B. et.al. Septal transplants restore maze learning in rats with fornix fimbria lesions. Brain Res. 251: 335-348, 1982a.
- Dunnett, S.B., Gage, F.H., Bjorklund, A., Stenevi, U. Low, W.C. and Iversen, S.D. Hippocampal deafferentiation: Transplant-derived reinnervation and functional recovery. Scandinavian J. of Psychol., suppl. 1:104-111, 1982b.
- Earnest, D. J. and Tunek, F.W., Role for acetylcholine in mediating effects of light on reproduction. Science 219: 77-79, 1983.
- Eastman, C. and Reichtschaffen, A. Circadian temperature and wake rhythms of rats exposed to prolonged continuous illumination. Physiol. and Behav. 31: 417-427, 1983.
- Felgus, M. Development of the retinohypothalamic projections in the rat. Anatom. Rec. 184: 400-401, 1976.
- Fickler, A. Experimentelle untersuchungen zur anatomie der traumatischen degeneration und der regeneration des ruckenmarks. Dtsch. Z. Nervenheilkd 29: 1-56, 1905.
- Fischette, C.T., Edinger, H.M. and Siegel, A. Temporary desynchronization among circadian rhythms with lateral fornix ablation. Brain Res. 229: 85-101, 1981.
- Fitzgerald, K.M. and Zucker, I. Circadian organization of the estrous cycle of the golden hamster. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 73: 2923-2927, 1976.
- Flood, D.G. and Gibbs, F.P. Species difference in circadian ¹⁴C 2-deoxyglucose uptake by suprachiasmatic nuclei. Brain Res. 232: 200-235, 1982.
- Forel, A.H. Das Sinnesleben der Insekten. Ernst & Reinhardt Verlag, Munchen, 1910.
- Fray, P.J., Dunnett, S.B., Iversen, S.B., Bjorklund, A. and Stenevi, U. Nigral transplants reinnervating the dopamine-depleted neostriatum can sustain intracranial self-stimulation. Science 219: 416-418, 1983.
- Freed, W.J. Functional brain tissue transplantation: Reversal of lesion-induced rotation by intraventricular substantia nigra and adrenal medulla grafts, with a note on intracranial retinal grafts. Biological Psychiatry 18 (11): 1205-1267, 1983.
- Freed, W.J., Karoum, F., Spoor, H.E., Morihisa, J.M., Olson, L. and Wyatt, R.J. Catecholamine content of intracerebral adrenal medulla grafts. Brain Research 269: 184-189, 1983.

- Freed, W.J., Morihisa, J.M., Spoor, E., Hoffer, B.J., Olson, L., Seiger, A. and Wyatt, R.J. Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behavior. Nature 292: 351, 1981.
- Freed, W., Perlow, M.J., Karoum, F., Seiger, A. Olson, L., Hoffer, B.J. and Wyatt, R.J. Restoration of dopaminergic function by grafting of fetal rat substantia nigra to caudate nucleus: Long term behavioral, biochemical and histochemical studies. Annals of Neurology 8: 510-519, 1980.
- Fuxe, K. Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. The distribution of monoamine terminals in the central nervous system. Acta Physiol. Scand. 64 (Suppl. 247): 39-85, 1965.
- Gage, F.H., Brundin, P., Isacson, O. and Bjorklund, A. Rat fetal brain tissue grafts survive and innervate host brain following five day pregraft tissue storage. Neuroscience Letters 60: 133-137, 1985.
- Garris, D.R. Direct septo-hypothalamic projections in the rat. Neurosci. Lett. 13: 83, 1979.
- Gash, D. Neural transplants in Mammals. A historical overview. in: Neural Transplants: Development and Function. (Ed. by R. Sladek and D. Gash), Plenum, New York, 1984. pp 1-12.
- Gash, D., Sladek, J.R. & Sladek, C.D. Functional development of grafted vasopressin neurons. Science 210: 1367-1369, 1980.
- Gash, D.M., Boer, G.J., Notter, M.F. and Sladek, J.R. Transplanted vasopressin neurons and central nervous system effects of vasopressin. Prog. Brain Res. 60: 189-195, 1983.
- Gibson, M.J., Krieger, D.T., Perlow, M.J., Davies, T., Zimmerman, E., Ferin, M. y Charlton, H. Hypothalamic brain transplants reverse hypogonadism in male mutant mice with gonadotropin-releasing hormone deficiency. Transactions of the Association of American Physicians 95: 188-195, 1982.
- Gibson, M.J., Harlton, H.M., Perlow, M.J., Zimmerman, E.A., Davies, T.F. and Krieger, D.T. Preoptic area brain grafts in hypogonadal (npg) female mice abolish effects at congenital hypothalamic gonadotropin-release hormone (GnRH) deficiency. Endocrinology 114: 1938-1940, 1984.

- Gibson, M.J., Krueger, D.T., Charlton, H.M., Zimmerman, E.A., Silverman, A.J. and Perlow, M.J. Mating and pregnancy can occur in genetically hypogonadal mice with preoptic area brain grafts. Science 225: 949-951, 1984.
- Gleen, P. Studies of cortical regeneration with special ** reference to cerebral implants. In: Regeneration in the central nervous system. Ed. W.F. Windle, Springfield: Thomas. pp. 94-111, 1955.
- Green, D.J. and Gillette, R. Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat suprachiasmatic brain slice. Brain Res. 245: 198-200, 1982.
- Gross, G.A. and Hendricks, J. Regularly firing neurons in the rat suprachiasmatic nucleus. Experientia 35: 1577-1598, 1974.
- Gross, G. and Mason, R. Maintained discharge of rat suprachiasmatic neurons at different adaptation levels. Neurosci. Lett. 8: 59-64, 1978.
- Guldner, F.H. and Wolff, J.R. Dendro-dendritic synapses in the suprachiasmatic nucleus of the rat hypothalamus. J. Neurocytol. 3: 245-250, 1974.
- Guldner, F.H. Synaptology of the rat suprachiasmatic nucleus of the rat hypothalamus. Cell Tiss. Res. 165: 509-544, 1976.
- Guldner, F.H. and Wolff, J.R. Self-innervation of dendrites in the rat suprachiasmatic nucleus. Exp. Brain Res. 32: 77-82, 1978.
- Halberg, F. Physiologic 24-hrs periodicity in human beings * and mice, the lighting regimen and daily routine. In: Photoperiodism and related phenomena in plants and animals. R.B. Withrow (Ed.). American Association for the Advancement of Science, Washington pp. 803-878, 1959.
- Hallas, B.H., Das, G.D. & Das, K.G. Transplantation of brain tissue in the brain of rat. II. Growth characteristics of neocortical transplantas in host of different ages. American Journal of Anatomy 158: 147-159, 1980.
- Harrington, M.E. and Russak, B. Intergeniculate leaflet lesions alter photic responses of Hamster circadian rhythm. Neurosci. Abs. 11: 817, 1985.
- Harvey, A.R. Embrionic hypothalamic tissue transplanted to the IVth ventricle of newborn brattleboro rats. Neuroscience Letters 52: 269-274, 1984.

- Harvey, A. y Lund, R.D. Transplantation of tectal tissue in rats. II. Distribution of hostneurons which project to transplants. The Journal of Comparative Neurology 202: 505-520, 1981.
- Hefti, F., Hartikka, J. and Schlumpf, M. Implantation of PC12 cells into the corpus striatum of rats with lesions of the dopaminergic nigrostriatal neurons. Brain Research 348 283-288, 1985.
- Hendrickson, A.E., Wagoner, N. and Cowan, W.M. An autoradiographic and electron microscopic study of retino-hypothalamic connections. Z. Zellforsch 135: 1-26, 1972.
- Hoffman, K. Splitting at the circadian rhythms as a function of light intensity. In: Biochronometry Ed. by M. Menaker. National Academy of Sciences. Washington, D.C. pp. 134-146, 1971.
- Honma, H.I. and Hiroshige, T. Internal synchronization among several circadian rhythms in rats under constant light. Am. J. Physiol. 235: R243-R249, 1978.
- Honma, H.I. and Hiroshige, T. Endogenous ultradian rhythms in rats exposed to prolonged continuous light. Am. J. Physiol. 235: R250-R256, 1978.
- Houle, J.D. y Das, G.D. Freezing and transplantation of brain tissue in rats. Experientia 36: 1114-1115, 1980.
- Inoue, H., Kohsaka, S., Yoshida, K., Ohtani, M., Toya, S. and Tsukada, Y. Cyclosporin A enhances the survivability of mouse cerebral cortex grafted into the third ventricle of rat brain. Neuroscience Letters 54: 85-90, 1985a.
- Inoue, H., Kohsaka, S., Yoshida, K., Otani, M., Toya, S. and Tsukada, Y. Immunohistochemical studies on mouse cerebral cortex grafted into the third ventricle of rats treated with cyclosporin A. Neuroscience Letters 57: 289-294, 1985b.
- Inouye, S.T. Restricted daily feeding does not entrain circadian rhythms of the suprachiasmatic nucleus in the rat. Brain Res. 232: 194-199, 1982.
- Inouye, S.I.T. Does the ventromedial hypothalamic nucleus contain a self-sustained circadian oscillator associated with periodic feedings? Brain Res. 279: 53-63, 1983.
- Inouye, S.T. and Kawamura, H. Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 76: 5962-5966, 1979.

- Inouye, S.I.T. and Kawamura, H. Characteristics of a circadian pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. J. Comp. Physiol. 146: 153-160, 1982.
- Isacson, O., Brundin, P., Kelly, P.A.T., Gage, F.H. and Bjorklund, A. Functional neuronal replacement by grafted striatal neurones in the ibotenic acid-lesioned rat striatum. Nature 311: 458-460, 1984.
- Isacson, O., Brundin, P., Gage, F.H. and Bjorklund, A. Neural grafting in a rat model of huntington's disease: Progressive neurochemical changes after neo-striatal ibotenate lesions and striatal tissue grafting. Neuroscience 16: (4) 799-817, 1985.
- Jaeger, C.B., Albert, V.R., Jott, T.H. and Reis, P.J. Aromatic L-aminoacid decarboxylase in the rat brain: Coexistence with vasopressin in small neurons of the suprachiasmatic nucleus. Brain Res. 276: 362-366, 1983.
- Jaeger, C.B. Cytoarchitectonics of substantia nigra grafts: A light and electron microscopic study of immunocytochemically identified dopaminergic neurons and fibrocytic astrocytes. J. of Comp. Neurol. 231: 121-135, 1985.
- Jensen, S., Sorensen, T., Moller, A. and Zimmer, J. Intraocular grafts of fresh and freeze-stored rat hippocampal tissue: A comparison of survivability and histological and connective organization. J. Comp. Neurol. 227 558-568, 1984.
- Kluver, H. and Barrera, E. A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. J. Neuropathol. Exptl. Neurol. 12: 400-403, 1953.
- Krieg, W.J.S. The hypothalamus of the albino rat. J. Comp. Neurol. 55: 19-89, 1932.
- Kromer, L.F., Bjorklund, A. y Stenevi, U. Intracerebral implants: A technique for studying neuronal interactions. Science 1117-1119, 1979.
- Kromer, L.F., Bjorklund, A. y Stenevi, U. Innervation of embryonic hippocampal implants by regeneration of cholinergic septal neurones in the adult rat. Brain Research 210: 153-171, 1980.
- Kromer, L.F., Bjorklund, A. y Stenevi, U. Regeneration of the septohippocampal pathways in adult rats is promoted by utilizing embryonic hippocampal implants as bridges. Brain Research 210: 173-200, 1981.

- Kromer, L., Bjorklund, A. y Stenevi, U. Intracerebral embryonic neural implants in the adult rat brain. I. Growth and mature organization of brainstem, cerebellar and hippocampal implants. The Journal of Comparative Neurology 218: 433-459, 1983.
- Kurumaji, S. and Kawamura, H. Dampen oscillation of the lateral hypothalamic multiple unit activity induced by restricted food schedules in rats with suprachiasmatic nuclei lesions. Neuroscience Abstracts 11: 817, 1985.
- Labbe, R., Firl Jr., A. y Mufson, E.J. Fetal brain transplants: Reduction of cognitive deficits in rats with frontal cortex lesions. Science 221: 470-472, 1981.
- Leen, N.J., Beebe, B. and Moore, R.Y. Postnatal development of the suprachiasmatic hypothalamic nucleus of the rat. Cell Tiss. Res. 178: 463-475, 1977.
- LeGros Clark, W.E. Neuronal differentiation in implanted ** fetal cortical tissue. J Neural Psychiatr. 3: 263-284, 1940.
- Ljungberg, T. y Ungerstedt, U. Sensory inattention produced by 6-OHDA-induced degeneration of ascending dopamine neurons in the brain. Experimental Neurology 53: 585-600, 1976.
- Low, W.C., Lewis, P.R., Bunch, S.T., Dunnett, S.B., Thomas, S.R., Iversen, S.D., Bjorklund, A. y Stenevi, U. Functional recovery following neural transplantation of embryonic septal nuclei in adult rats with septohippocampal lesions. Nature 300: 260-262, 1982.
- Luine, V.N., Frankfurt, M., Rainbow, T., Bieganski, A. and Azmitia, E. Brain Res. 264: 344- , 1983.
- Luine, V.N., Renner, K.J., Frankfurt, M. and Azmitia, E. Facilitated sexual behavior reversed and serotonin repleted by raphe nuclei transplanted into denervated hypothalamus. Science 226: 1436-1439, 1984.
- Lund, R.D. and Hauschka, S.D. Transplanted neural tissue develops connections with host rat brain. Science 194: 582-584, 1976.
- Lytic, R. and Moore-Ede, M.C. Three dimensional structure of the suprachiasmatic nuclei in the diurnal squirrel monkey (Saimini sciureus). Neurosci. Lett. 17: 295-299, 1980 a.

- Lydic, R., Schoene, W.C., Czeisler, C.A. and Moore-Ede, M.C. Suprachiasmatic region of the human hypothalamus: Homolog to primate circadian pacemaker? Sleep 2: 355-362, 1980 b.
- Lydic, R., Albers, H.E., Tepper, B. and Moore-Ede, M.C. Three dimensional structure of mammalian suprachiasmatic nuclei: A comparative study of five species. J. Comp. Neurol. 204: 225-237, 1982.
- Marinesco, M. y Minea, J. Changements morphologiques des
 ** cellules nerveuses survivant a la transplantation des ganglions nerveux. C.R. Acad. Sci. 144: 656-658, 1907.
- May, R.M. Régénération cérébrale provoquée par la greffe
 ** intraoculaire simultanée de tissu cérébral de nouveau-né et de nerf sciatique chez la souris. Bull. Biol. Fr. Belg. 79: 151, 1945.
- May, R.M. Connexions entre des cellules cérébrales et des
 ** muscles de la cuisse dans leur greffe brephoplastique intra-oculaire simultanée chez la souris. Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp. 38: 145, 1949.
- May, R.M. La greffe brephoplastique intra-oculaire
 ** simultanée de tissu cérébral et de thymus vivant ou mort chez la souris. Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp. 41: 237, 1952.
- May, R.M. La greffe brephoblastique intraoculaire du
 ** cervelet chez la souris. Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp. 43: 42, 1954.
- May, R.M. Cerebral transplantation in mammals. Transplant.
 ** Bull. 2: 62, 1955.
- May, R.M. The possibilities of brephoplastic transplants.
 ** Ann. N.Y. Acad. Sci. 64: 937, 1957.
- May, R.M. and Barres, M.C. La greffe brephoplastique de
 ** tissu cérébral sous la capsule du rein chez la souris. C.R. Acad. Sci. 254: 2839, 1962.
- McEvoy, R.C. and Leung, P.E. Transplantation of fetal rat
 islets into the cerebral ventricles of alloxan-diabetic rats. Diabetes 32: 852-856, 1983.
- Meibach, R.C. and Siegel, A. Efferent connections of the
 hippocampal formation in the rat. Brain Res. 124: 197-224, 1977.
- Moore, R.Y. Retinohypothalamic projection in mammals: A
 comparative study. Brain Res. 49: 403-409, 1973.

- Moore, R.Y. The suprachiasmatic nucleus, circadian rhythms and regulation of brain peptides. In: Neurosecretion and Brain Peptides. Ed. by J.R. Martin, S. Reichlin and K.L. Bick. Raven Press, New York, 1981.
- Moore, R.Y. Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: The suprachiasmatic hypothalamic nucleus. Federation Proc. 42: 2783-2789, 1983.
- Moore, R.Y. and Eichler, V.B. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic nucleus lesions in the rat. Brain Res. 42: 201-206, 1972.
- Moore, R.Y. and Klein, D.C. Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal n-acetyl transferase activity. Brain Res. 71: 17-33, 1974.
- Moore, R.Y. and Lenn, N.J. A retinohypothalamic projection in the rat. J. Comp. Neurol. 146: 1-46, 1972.
- Moore, R.Y., Gustafson, E.L. and Card, J.P. Identical immunoreactivity nucleus with antisera against avian pancreatic polypeptide, mullusio cardioexcitatory peptide and neuropeptide Y. Cell Tissue Res. 236: 41-46, 1984.
- Moore-Ede, M.C., Sulzman, F.M. and Fuller, C.A. The clocks that time us. Harvard University Press. Cambridge and London. pp. 1-29, 1982.
- Moore-Ede, M.C., Czeisler, C.A. and Richardson, G.S. Circadian timekeeping in health and disease. New Eng. J. Med. 309: 469-476 & 530-536, 1983.
- Mosko, S. and Moore, R.Y. Neonatal suprachiasmatic nucleus ablation: Absence of functional and morphological plasticity. Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 75: 6243-6246, 1978.
- Nauta, W.J.H. Hypothalamic regulation of sleep in rats. An * experimental study. J. Neurophysiol. 9: 285-315, 1946.
- Nishino, H., Koizumi, K. and Brooks, C. McC. The role of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus in the production of circadian rhythms. Brain Res. 112: 45-59, 1976.
- Ogle, J.W. On the diurnal variations in the temperature of * the human body in health. St. George's Hosp. Rep. 1: 220-245, 1886.
- O'Keefe, J. y Nadel, L. The hippocampus as a cognitive map. Oxford: Clarendon Press, 1978.

- Olson, C. y Malmfors. Growth characteristics of adrenergic nerves in the adult rat. Acta Physiol. Scand. Suppl. 348: 1-112, 1970.
- Olson, L., Sieger, A., Freedman, R. y Hoffer, B. Chromaffine cells can innervate brain tissue: Evidence from intraocular double grafts. Experimental Neurology 70: 414-426, 1980.
- Perlow, M.J. et al. Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. Science 204: 643-647, 1979.
- Pfeffer, W. Physiologische Untersuchungen. Wilhelm Engelmann, * Leipzig, 1873.
- Pickard, G.E. The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retinohypothalamic projection. J. Comp. Neurol. 211: 65-83, 1982.
- Pickard, G.E. and Turek, F.W. Splitting of the circadian rhythm of activity is abolished by unilateral lesions of the suprachiasmatic nuclei. Science 215: 1119-1121, 1982.
- Pittendrigh, C.S. Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 25: 159-184, 1960.
- Pittendrigh, C.S. and Bruce, V.G. Photoperiodism and related phenomena in plant and animals, In: American Association for the Advancement of Science, Ed., by R.B. Withrow. Washington, D.C., 1959.
- Pittendrigh, C.S. and Dann, S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V. Pacemaker structure: A clock for all seasons. J. Comp. Physiol. 106: 333-355, 1976.
- Prosser, R.A. and Satinoff, E. Effects of partial SCN lesions on body temperature, Drinking and activity rhythms in rats. Neuroscience Abstracts 11: 817, 1985.
- Raju, S. y Grogan, J.B. Immunologic study of the brain as a privileged site. Transplant Proc. 9: 1187-1191, 1977.
- Ralph, M.R. and Menaker, M. Bicuculline blocks circadian phase delays but not advances. Brain Res. 325: 362-365, 1985.
- Ranson, S.W. Transplantation of the spinal ganglion, with ** observations on the significance of the complex types of spinal ganglion cells. J. Comp. Neurol. 24: 547-558, 1914.

- Redman, J., Armstrong, S. and Ng, K.T. Free-running activity rhythms in the rat: Entrainment by melatonin. Science 219: 1089-1091, 1983.
- Renner, M. Ein transozeanversuch zum zeitsinn der honigbiene. * Naturwissenschaften 42: 540-541, 1955.
- Reppert, S.M. and Schwartz, W.J. Maternal coordination of the fetal biological clock in utero. Science 220: 969-971, 1983.
- Reppert, S.M. and Schwartz, W. J. Functional activity of the suprachiasmatic nuclei in the fetal primate. Neurosci. Lett. 46: 145-149, 1984 a.
- Reppert, S.M. and Schwartz, W.J. The suprachiasmatic nuclei of the fetal rat: Characterization of a functional circadian clock using ¹⁴C-labelled deoxyglucose. J. Neurosci. 4: 1677-1682, 1984 b.
- Reppert, S.M., Perlow, M.J., Ungerleider, L.G., Mishkin, M., Tamarkin, L., Orloff, D.G., Hoffman, H.J. and Klein, D.C. Effects of damage to the suprachiasmatic area of the anterior hypothalamus on the daily melatonin and cortisol rhythms in the rhesus monkey. J. Neurosci. 1: 1414-1425, 1981.
- Ribak, C.E. and Peters, A. An autoradiographic study of the projections from the lateral geniculate body of the rat. Brain Res. 92: 341-368, 1975.
- Richter, C.P. A behavioristic study of the activity of the rat. Comp. Psych. Monographs 1: 1-55, 1922.
- Richter, C.P. Biological clocks in medicine and psychiatry. * C.C. Thomas, Springfield, Illinois., 1965.
- Richter, C.P. Sleep and activity: Their relation to the 24-hour clock. Proc. Assoc. Res. Nerv. Mental Dis. 45: 8-27, 1967.
- Rietveld, W.J. and Gross, G.A. The role of suprachiasmatic nucleus afferents in the central regulation of circadian rhythms. In: 11th International Congress of Anatomy: Biological Rhythms Structure and Functions. Alan R. Liss, Inc. New York. pp. 205-211, 1981.

- Riley, J.N., Card, J.P. and Moore, R.Y. A retinal projection to the lateral hypothalamus in the rat. Cell Tissue Res. 214: 257-269, 1981.
- Russak, B. and Zucker, I. Neural regulation of circadian rhythms. Physiol. Rev. 59: 449-526, 1979.
- Russak, B. and Gross, G. Suprachiasmatic stimulation phase shifts rodent circadian rhythm. Science 215: 1407-1409, 1982.
- Saavedra, J.M., Palkovits, M., Brown-Stein, M.J. and Axelrod, J. Serotonin distribution in the nuclei of the rat hypothalamus and preoptic region. Brain Res. 77: 157-165, 1974.
- Saltykow, S. Versuche über gehirnpflanzung, zugleich ein ** beitrage zur kenntnis der vorgänge an der zelligen gehirnelementes. Arch. Psychiatr. Nervenkv. 40: 329-388, 1905.
- Saper, C.B., Swanson, L.W. and Cowan, W.M. The efferent connection of the ventromedial nucleus of the hypothalamus of the rat. J. Comp. Neurol. 169: 409-442, 1976.
- Sawaki, Y., Nihonmatsu, I. and Kawamura, H. Transplantation of the neonatal suprachiasmatic nuclei into rats with complete bilateral suprachiasmatic lesions. Neurosci. Res. 1: 67-72, 1984.
- Schmidt, R. H., Bjorklund, A. y Stenevi, U. Intracerebral grafting of dissociated CNS tissue suspensions: A new approach for neuronal transplantation to deep brain sites. Brain Research 218: 347-356, 1981.
- Schmidt, R.H., Lindval, M., Stenevi, U. y Bjorklund, A. Functional activity of substantia nigra grafts reinnervating the striatum: Neurotransmitter metabolism in C-2 deoxy-D-Glucose autoradiography. Journal of Neurochemistry 38: 737-748, 1982.
- Schwartz, W.J. and Gainer, H. Suprachiasmatic nucleus: Use of ¹⁴C-labelled deoxyglucose uptake as a functional marker. Science 197: 1089-1091, 1977.
- Schwartz, W.J., Davidsen, L.C. and Smith, C.B. In vivo metabolic activity of a putative circadian oscillator, the rat suprachiasmatic nucleus. J. Comp. Neurol. 189: 157-167, 1980.
- Schwartz, W.J., Reppert, S.M., Eagan, S.M. and Moore-Ede, M.C. In vivo metabolic activity of the suprachiasmatic nuclei: A comparative study. Brain Res. 274: 184-187, 1983.

- Scott, D.E. Fetal hypothalamic transplants: Neuronal and neurovascular interrelationships. Neuroscience Letters 51: 93-98, 1984.
- Shibata, S., Omura, Y., Kita, H. and Hattore, K. Circadian rhythmic changes of neuronal activity in the suprachiasmatic nucleus of the rat hypothalamic slice. Brain Res. 247: 154-158, 1982.
- Shibata, S., Omura, Y., Lion, S.Y. and Veki, S. Electrophysiological studies on the development of suprachiasmatic neuronal activity in hypothalamic slice preparations. Develop. Brain Res. 13: 29-35, 1984.
- Simpson, S. and Galbraith, J.J. Observations on the normal * temperature of the monkey and its diurnal variation, and on the effect of changes in the daily routine on this variation. Trans. Roy. Soc. Edinburgh 45: 65-106, 1906.
- Sims, K.B., Hoffman, D.L., Said, S.I. and Zimmerman, E.A. Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP) in mouse and rat brain: An immunocytochemical study. Brain Res. 186: 165-183, 1980.
- Sofroniew, M.V. and Weindl, A. Projections from the parvocellular vasopressin- and neurophysin-containing neurons of the suprachiasmatic nucleus. Am. J. Anat. 153: 391-430, 1978.
- Spiegel, E.A. and Zweig, H. Zur cytoarchitektonik des tuber * cinereum. Arb. Neurol. Inst. Wiener Univ. 22: 278- , 1917.
- Stenevi, U., Bjorklund, A. y Svendgaard, N.A. Transplantation of central and peripheral monoamine neurons to the adult rat brain: Techniques and conditions for survival. Brain Research 114: 1-20, 1976.
- Stephan, F.K. and Zucker, I. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 69: 1583-1586, 1972.
- Stopa, E.G., King, J.C., Lydic, R. and Schoene, W.C. Human brain contains vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide neuronal subpopulations in the suprachiasmatic region. Brain Res. 297: 159-163, 1984.
- Stroebe, H. Experimentelle untersuchungen uber dee ** degeneration und reparatorischen vorgange bei der heilung von verletzungen des ruckenmarks nebst. Beitr. Pathol. Anat. Allg. Pathol. 15: 383-490, 1894.

- Swaab, D.F., Pool, C.W. and Nijveldt, F. Immunofluorescence of vasopressin and oxytocin in the rat hypothalamo-neurohypophyseal system. J. Neural Transm. 36: 195-215, 1975.
- Swanson, L.W. An autoradiographic study of the efferent connections of the preoptic region in the rat. J. Comp. Neurol. 16: 227- , 1976.
- Swanson, L.W. and Cowan, V.M. The efferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus. J. Comp. Neurol. 160: 1-12, 1975.
- Swanson, L.W., Cowan, W.M. and Jones, E.G. An autoradiographic study of the efferent connections of the ventral lateral geniculate nucleus in the albino rat and cat. J. Comp. Neurol. 156: 143-164, 1974.
- Thompson, W.G. Successful brain grafting. NY Med. J. 51: ** 701-702, 1890.
- Thomson, A.M., West, D.C. and Vlachonikois, I.G. Regular firing patterns of suprachiasmatic neurons maintained in vitro. Neurosci. Lett. 52: 329-334, 1984.
- Thorpe, P.A. The presence of a retinohypothalamic projection in the ferret. Brain Res. 85: 343-346, 1975.
- Tidd, C.W. The transplantation of spinal ganglia in the white ** rat. A study of the morphological changes in surviving cells. J. Comp. Neurol. 55: 531-543, 1932.
- Tobler, I., Borbely, A.A. and Gross, G. The effect of sleep deprivation on sleep in rats with suprachiasmatic lesions. Neurosci. Lett. 42: 49-54, 1983.
- Tze, W.J. and Tai, J. Successful intracerebral allotransplantation of purified pancreatic endocrine cells in diabetic rat. Diabetes 32:1185,1983.
- Tze, W.J. and Tai, J. Intracerebral allotransplantation of purified pancreatic endocrine cells and pancreatic islets in diabetic rats. Transplantation 38: (2) 107-111, 1984.
- Ungerstedt, U. Postsynaptic supersensitivity after 6-OHDA induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. Acta Physiol. Scand. (Suppl.) 367: 69-93, 1971.
- Van Den Pol, A.N. and Powely, T. A fine-grained anatomical analysis of the role of the rat suprachiasmatic nucleus in circadian rhythms of feeding and drinking. Brain Res. 160: 307-326, 1979.

- Van Den Pol, A.N. The hypothalamic suprachiasmatic nucleus of rat: Intrinsic anatomy. J. Comp. Neurol. 191: 661-702, 1980.
- Von Economo. Schlaftheome. Ergebnisse der Physiologie 28: * 312-339, 1929.
- Wallace, R.B. and Das, G.D. Behavioral effects of CNS transplants in the rat. Brain Research 243: 133-139, 1982.
- Watanabe, K. and Hiroshige, T. Phase relation between episodic fluctuations of spontaneous locomotr activity and plasma corticosterone in rats with suprachiasmatic nuclei lesions. Neuroendocrinol. 33: 52-59, 1981.
- Wenzel, J. y Barlhier. Zur regeneration des cortex cerebri ** bei mus musculus. II. Morphologische befunde regenerativer vorgange nach replantation eines cortex-abschnittes. Z. Mikrosk. Anat. Forsch. 81: 32-70, 1969.
- Wiegand, S.J. and Gash, D.M. Organization and efferent projections of suprachiasmatic nuclei contained in intraventricular transplants of fetal anterior hypothalamus. Neuroscience Abstracts 11: 607, 1985.
- Wikstrand C.J. and Bigner D.D. Immunobiologic aspects of the brain and human gliomas. Am. J. Pathol. 98: 517-567, 1980.
- Willis, R.A. Experiments on the intracerebral implantation of ** embryo tissue in rats. Proc. R. Soc. B. Ser. 117: 400-412, 1935.
- Wuerthele, S.M. et al. Effect of dopamine agonist and antagonist on the electrical activity of substantia nigra neurons transplanted into the lateral ventricle of the rat. Experimental Brain Research 44: 1-10, 1981.
- Zaborszky, L. and Makara, G.B. Intrahypothalamic connections: An electron microscopic study in the rat. Exp. Brain Res. 34: 201- , 1979.
- Zatz, M. and Brownstein, M.J. Intraventricular carbachol mimics the effects of light in the circadian rhythm in the rat pineal gland. Science 203: 358-361, 1979.
- Zatz, M. and Herkenham, M.A. Intraventricular carbachol mimics the phase-shifting effect of light on the circadian rhythm of wheel-running activity. Brain Res. 212: 234-238, 1981.

Zimmerman, N.H. and Menaker, M. Neural connections of sparrow pineal: Role in circadian control of activity. Science 190: 477-479, 1975.

Zimmerman, N.H. and Menaker, M. The pineal gland: A pacemaker within the circadian system of the house sparrow, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 979-1003, 1979.

Zinn, J.G. On the sleep of plants. Hamburgisches Magazin 22: * 40-50, 1759.

Zucker, I., Rusak, B. and King Jr., R.G. Neural bases for circadian rhythms in rodent behavior. In: Advances in Psychobiology Vol. 3. A.H. Riesen and R.F. Thompson (Eds.) John Wiley & Sons, New York. pp. 35-74, 1976.

* Citado en:

Moore-Ede, M.C., Sulzman, F.M. and Fuller, C.A. The clocks that time us. Harvard University Press, Cambridge and London. pp. 1-29, 1982.

** Citado en:

Gash, D. Neural transplants in Mammals. A historical overview. in: Neural Transplants: Development and Function. (Ed. by R. Sladek and D. Gash), Plenum, New York, pp 1-12, 1984.