

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de Morfología Microscópica



TESIS DOCTORAL

**Leyes de evolución de neuronas corticales en situaciones
normales y patológicas, inducidas experimentalmente**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Fernando Sánchez-Toscano Vidal

Madrid, 2015

Fernando Sánchez-Toscano Vidal

TP
1981

120



* 5 3 0 9 8 5 5 9 6 7 *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

1-53-016822-6

LEYES DE EVOLUCION DE NEURONAS CORTICALES EN SITUACIONES
NORMALES Y PATOLOGICAS, INDUCIDAS EXPERIMENTALMENTE

Departamento de Morfología Microscópica
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Complutense de Madrid
1981



BIBLIOTECA

© Fernando Sánchez-Toscano Vidal
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-15919-1981

FERNANDO SANCHEZ-TOSCANO VIDAL

LEYES DE EVOLUCION DE NEURONAS CORTICALES EN
SITUACIONES NORMALES Y PATOLOGICAS, INDUCIDAS
EXPERIMENTALMENTE

DIRIGIDA POR ANTONIO RUIZ MARCOS
INVESTIGADOR CIENTIFICO,
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE BIOFISICA
DEL INSTITUTO CAJAL DEL C.S.I.C.

Universidad Complutense de
Madrid.
Facultad de Ciencias Biológicas
1980.

LEYES DE EVOLUCION DE NEURONAS CORTICALES EN SITUACIONES NORMALES
Y PATOLOGICAS, INDUCIDAS EXPERIMENTALMENTE

FERNANDO SANCHEZ-TOSCANO VIDAL

Trabajo presentado para optar al
grado de Doctor en Ciencias Bio-
lógicas por la Universidad Com-
plutense de Madrid por Fernando
Sanchez-Toscano Vidal

Madrid, 1980.

V^a B^a

EL DIRECTOR DE LA TESIS



Fdo.: Antonio Ruiz Marcos

A Conchita y a Julia

	<u>Pags.</u>
I. <u>INTRODUCCION</u>	2
II. <u>MATERIAL Y METODOS</u>	10
A. MATERIAL BIOLÓGICO	10
B. ESQUEMA EXPERIMENTAL	11
C. PERFUSION DE LOS ANIMALES	15
D. TECNICA HISTOLOGICA	16
E. OBTENCION DE LOS DATOS	17
F. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS	26
III. <u>RESULTADOS</u>	36
I. EVOLUCION DE LA VARIABLE NUMERO MEDIO DE ESPINAS DENDRITICAS POR NEURONA.	37
I.1) Animales control.	37
I.2) Animales enucleados unilateralmente.	39
I.3) Animales enucleados bilateralmente.	42
II. EVOLUCION DE LA VARIABLE NUMERO MEDIO DE ES PINAS DENDRITICAS POR SEGMENTO DE 50 μ A LO LARGO DEL TALLO APICAL SEGUN LAS DIFERENTES CAPAS DE LA CORTEZA.	45
A) DESARROLLO DE ESPINAS DENDRITICAS A NIVEL DE LA <u>CAPA IV</u> .	46
1) Animales Control.	47
2) Animales enucleados unilateralmente.	50
3) Animales enucleados bilateralmente.	52

	<u>Pags.</u>
B) DESARROLLO DE ESPINAS DENDRITICAS A NIVEL DE LA <u>CAPA III</u> .	57
1) Animales control.	57
2) Animales enucleados unilateralmente.	59
3) Animales enucleados bilateralmente.	65
III. ESTUDIO DEL NUMERO MEDIO DE ESPINAS DENDRITICAS POR MICRA EN LAS RAMAS OBLICUAS DEL TALLO APICAL.	70
IV. RESULTADOS OBTENIDOS EN RELACION CON EL MODELO MATEMATICO DE DISTRIBUCION DE ESPINAS DESCRITO POR RUIZ MARCOS Y VALVERDE (1969).	74
A) AJUSTE TEORICO EXPERIMENTAL.	74
B) EVOLUCION DE LOS PARAMETROS B, IF Y K DEL MODELO MATEMATICO A LO LARGO DEL DESARROLLO. EVOLUCION DEL COCIENTE B/IF.	78
-Evolución del parámetro B. Factor Potenciador.	80
-Evolución del parámetro IF. Factor Inhibidor.	85
-Cociente B/IF.	87
-Evolución del Parámetro K.	94
IV. <u>DISCUSION</u>	97
- CONSIDERACIONES METODOLOGICAS.	97
- PATRON GENERAL DE FORMACION DE ESPINAS DENDRITICAS	100
- EFECTO DE LA ENUCLEACION MONOCULAR Y BINOCULAR SOBRE EL PATRON GENERAL DE FORMACION DE ESPINAS DENDRITICAS	104

	<u>Pags.</u>
A) En todo el tallo	104
B) A nivel de la Capa IV	106
C) A nivel de la Capa III	121
IV. <u>DISTRIBUCION DE ESPINAS DENDRITICAS. DETERMINACION INTRINSECA DE LA SINAPTOGENESIS CEREBRAL. PLAN GENERAL DE DISTRIBUCION DE ESPINAS.</u>	133
V. <u>RESUMEN Y CONCLUSIONES.</u>	145
VI. <u>AGRADECIMIENTOS.</u>	
VII. <u>BIBLIOGRAFIA.</u>	

INTRODUCCION

INTRODUCCION

Es opinión generalizada entre los neurobiólogos, que una definición exacta de la plasticidad del Sistema Nervioso Central llevaría a una mejor comprensión de los mecanismos determinantes de la formación de circuitos cerebrales, sobre los que se basan problemas tan fundamentales y a la vez tan desconocidos como la Memoria y el Aprendizaje. Una manera de abordar el tema, es tratando de delimitar exactamente los elementos de la conectividad cerebral que son controlados genéticamente y aquellos otros que lo son por factores ambientales. Esta dualidad de factores intrínsecos por un lado, constituyentes de un esquema rígido genéticamente determinado, extrínsecos por otro, esto es la historia vital del individuo, da un papel primordial a la estimulación sensocial en el desarrollo y mantenimiento del Sistema Nervioso Central.

En este tipo de estudios, el Sistema Visual ha sido el más utilizado por reunir una serie de ventajas de manipulación que no se encuentran en otros sistemas sensoriales: Así una anatomía bien conocida con funciones fácilmente detectables por pruebas fisiológicas y comportamentales; y unas grandes posibilidades de control de la estimulación visual.

Por eso desde principios de siglo los investigadores empezaron a estudiar en muchas especies los cambios que variaciones del contingente lumínico producían en los centros visuales.

Así como los resultados obtenidos en Vertebrados Inferiores fueron muchas veces concluyentes, p. ej. transformaciones retinia

nas en aves frente a ausencia de luz (CARLSON 1902), los estudios preliminares en Mamíferos fueron inciertos y contradictorios. VON GUDDEN (citado por GOODMAN en 1932) y BERGER (1900) fueron los primeros en crear una situación de deprivación visual experimental mediante sutura de párpados, encontrando cambios histológicos a nivel de la corteza visual de conejos, gatos y perros después de la deprivación. GOODMAN (1932) fue el primero en estudiar los efectos de la enucleación sobre el desarrollo de la corteza cerebral encontrando ligeros cambios no cuantificables en el espesor cortical y reducción en el número de gránulos de Nissl. No obstante, el propio GOODMAN (1932) intentó una cuantificación de sus hallazgos histológicos tras deprivación visual pero sus resultados no fueron satisfactorios, con lo cual se observa una detención de este tipo de estudios morfológicos durante las dos décadas siguientes. En los años 50 se renovó el interés por la histología y bioquímica de los centros visuales y el uso de nuevas técnicas, unido a la introducción de métodos cuantitativos con la incorporación de los ordenadores al campo de la investigación biológica, ha permitido un espectacular avance en este terreno.

El comienzo del empleo de métodos matemáticos para el análisis de la organización cerebral coincide con la "resurrección" del método de GOLGI como instrumento de estudio comparativo de la organización estructural de los centros nerviosos. El tratamiento estadístico de una serie de parámetros neuronales implicados en la conectividad, puso de manifiesto la existencia de "leyes" que regulan el establecimiento de los circuitos cerebrales, lo cual en base a los conocimientos previos de orden exclusivamente cuali

tativo abrió nuevos caminos para la comprensión de los mecanismos de maduración cerebral. Los trabajos de BOK (1936, 1959) son pioneros en este sentido. Mediante la medición de numerosos parámetros morfológicos tales como relación del tamaño de pericarion por núcleo, patrón de ramificación del árbol dendrítico y cuantificación de la trama fibrilar en general, llega a la formulación de ciertas leyes. SHOLL (1953, 1956, 1959), en un intento de llegar a conocer los principios del establecimiento de las interconexiones neuronales, lleva a cabo una serie de trabajos sobre el patrón de ramificación dendrítica y establece, entre otras, una relación funcional entre el número de interacciones por unidad de área y la distancia al centro del soma neuronal: el campo conectivo de la neurona. Con la colaboración del físico UTTLEY y basándose en los conceptos anteriores se establece la probabilidad de conexión entre un axon cualquiera y el campo dendrítico de una neurona determinada (SHOLL y UTTLEY, 1953).

El interés práctico del método de SHOLL unido a sus implicaciones teóricas hizo que el empleo de métodos cuantitativos basados en los datos obtenidos con el método de GOLGI se extendiera de forma importante en el campo de la neurobiología del desarrollo, (ver p.ej. MITRA 1955; EAYRS y GOODHEAD 1959; RAMON MOLINER 1961 y SCHADE y col. 1964), y concretamente al estudio de los cambios morfológicos en estructuras normales en condiciones de deprivación sensorial.

Los estudios se centraron en diversos parámetros tanto citoarquitectónicos como de la anatomía neuronal. Así por ejemplo GYLLENSTEIN y col. (1965 y 1967) estudiaron los efectos de la oscu-

ridad y la enucleación binocular sobre el diámetro de los núcleos neuronales, volumen medio de material internuclear por núcleo y espesor de la corteza visual de ratones criados en ambiente normal y en entorno enriquecido. Los resultados reflejan importantes deficiencias de estos parámetros como consecuencia de la deprivación.

El estudio de la densidad sináptica ha sido llevado a cabo entre otros por CRAGG (1967, 1972, 1974 y 1975) y VRENSEN y DE GROOT (1974) no encontrándose en este caso diferencias importantes tras deprivación visual, aunque si alteraciones en la ultraestructura sináptica.

Los primeros autores que abordaron el problema de la distribución de sinapsis en la Corteza Cerebral tratando de ver si ésta se realizaba al azar o siguiendo un patrón preestablecido fueron VALVERDE y RUIZ MARCOS (1969) los cuales llegaron a la formulación de un Modelo Matemático completo que describía la forma en que las dendritas apicales de las neuronas piramidales, tal y como más adelante trataremos con más detalle.

El estudio cuantitativo de la ramificación dendrítica neuronal ha sido abordado por varios autores tanto en interneuronas (GLOBUS y SCHEIBEL, 1967 a; COLEMAN y RIESEN, 1968; VALVERDE, 1968; FIFKOVA, 1967, 1970 ; FIFKOVA y HASSLER, 1969; BORGES y BERRY, 1976), como en la ramificación basal de células piramidales (RUIZ MARCOS y VALVERDE, 1970). Casi todos estos trabajos coinciden en demostrar cambios activos de orientación dendrítica o disminución del campo dendrítico como consecuencia de la deprivación visual, lo que puede interpretarse en función de un alto grado de plasticidad en estas estructuras neuronales.

La importancia de las Espinas Dendríticas para el conocimiento y comprensión de los patrones de conectividad cortical, nace del hecho de que estas estructuras constituyen el principal aparato receptor de las dendritas apicales de las neuronas piramidales. Observadas por primera vez por RAMON y CAJAL en 1891 mediante el método de GOLGI, fue en un principio cuestionada su existencia real. El empleo de la microscopía electrónica demostró la realidad de las espinas dendríticas, (GRAY, 1959) como estructuras complejas sobre las que se establecen sinapsis de tipo I (según GRAY 1959) o asimétricas, (según COLONNIER, 1968).

Aunque su papel funcional no es perfectamente comprendido (ver las hipótesis; CHANG, 1952; RALL, 1962, 1970; PETERS y KAISERMAN ABRAMOF, 1970; DIAMOND y col., 1970) sí está constatada la plasticidad morfológica con que responden a diversas situaciones experimentales: privación visual (VALVERDE 1967, 1971; RUIZ MARCOS y VALVERDE 1969; GLOBUS y SCHEIBEL, 1967 b), enucleación (GLOBUS y SCHEIBEL, 1966, 1967; VALVERDE, 1968; RYUGO y col., 1975), privación alimenticia (SALAS y col., 1974) o a situaciones patológicas (PURPURA, 1975), haciendo pensar en el primordial papel representado por estas estructuras en las relaciones morfofuncionales de la corteza cerebral.

Basándose en la observación previa de que el número medio de espinas dendríticas por segmento de 50μ , a lo largo de los tallos apicales de las piramidales de la capa V, se incrementa exponencialmente con la distancia al soma celular, RUIZ MARCOS y VALVERDE, 1969, desarrollaron un Modelo Matemático que, como hemos dicho anteriormente, define coherentemente la distribución de espinas a lo

largo de estas dendritas de las neuronas piramidales. El Modelo consta de cuatro ecuaciones: una principal, que describe la forma en que las espinas se distribuyen a lo largo del tallo apical y que es la siguiente:

$$Y_s = Y_m (1 - K.e^{-B.x}) . e^{-IFx}.$$

En donde Y_s es el número medio de espinas en un segmento determinado. Y_m el valor de espinas existentes en un segmento de 50μ estimado mediante un método histológico.

e es la base de los logaritmos naturales y x la distancia de un segmento respecto al soma neuronal.

Los coeficientes B , IF y K determinarán la distribución de espinas en cada caso y su evolución temporal viene descrita por tres ecuaciones paramétricas temporales que completan el Modelo Matemático.

El cumplimiento generalizado del mismo a lo largo del desarrollo del ratón, unido a su comprobación en otros mamíferos como el hamster, gato y en el hombre, da la idea de la existencia de un patrón o ley general de distribución de las espinas dendríticas a lo largo de los tallos apicales de las neuronas piramidales, patrón que se mantiene incluso en aquellas de estas células que tienen orientaciones anómalas.

Del mismo modo, los autores del Modelo Matemático llevaron a cabo comprobaciones de su cumplimiento en ratones criados en oscuridad en algunos momentos de su desarrollo (RUIZ MARCOS y VALVERDE 1969), no encontraron desviaciones de la distribución de espinas respecto a la distribución teórica dada por la ecuación fundamen-

tal del Modelo.

Estos resultados sugieren la existencia de un fuerte determinismo intrínseco de tipo genético, en cuanto al parámetro estudiado que contrasta, a primera vista, con la variabilidad mostrada por el número de espinas dendríticas frente a situaciones experimentales.

El interés que una mejor delimitación de esta dualidad genético-ambiental en el desarrollo de la conectividad, puede tener para la comprensión de los mecanismos de desarrollo y maduración cerebral, nos ha conducido a la realización de este trabajo.

Para ello se pretende realizar un estudio detallado de los efectos de la enucleación, tanto monocular como binocular, sobre el desarrollo de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la Corteza Visual Primaria de la Rata midiendo dos tipos de variables principalmente: a) El número de espinas considerado tanto globalmente a lo largo del tallo apical completo como a nivel de las capas corticales, con lo cual se podrían detectar posibles fenómenos inherentes a la conectividad de una capa concreta y b) la distribución de espinas en relación al Modelo Matemático de RUIZ MARCOS y VALVERDE (1969).

Una mejor cuantificación de la respuesta del número de espinas frente a la deprivación, unida a los resultados obtenidos de la utilización del Modelo Matemático, creemos que puede darnos una idea más clara de la relación entre la componente intrínseca y la ambiental del desarrollo de los contactos sinápticos de las neuronas Piramidales.

7

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS

A. MATERIAL BIOLÓGICO.-

Hemos utilizado en este sentido a la rata noruega (Rattus norvegicus) de la raza Wistar como animal experimental, el cual al poder ser criado en nuestro propio animalario permite un control riguroso de la raza y características de los sujetos de estudio y consiguientemente el obtener grupos de individuos bastante homogéneos. Este aspecto es importante en los estudios relativos al Sistema Nervioso, ya que, como han demostrado algunos autores, distintas razas, aún dentro de la misma especie presentan diferencias en su comportamiento (OLIVERIO, 1974), lo que puede implicar una diferencia en su microestructura cerebral (RUIZ MARCOS, GOZZO y OLIVERIO, comunicación personal).

Por otro lado la gran similitud entre las características estructurales de la Corteza Cerebral de la rata y del ratón nos hace pensar "a priori" y en cuanto a espinas dendríticas se refiere, en la validez para nuestro estudio del Modelo Matemático establecido por RUIZ MARCOS y VALVERDE en 1969 en el ratón. Se utilizaron un total de 64 camadas las cuales fueron igualadas a 8 crías cada una al día siguiente de un nacimiento con objeto de proporcionar a todos los individuos las mismas posibilidades de desarrollo durante los 22 primeros días de vida, momento en el cual fué efectuado el destete de los animales. Estos eran posteriormente trasladados en grupos de 4 a jaulas todas ellas de igual tamaño siéndoles administrada una dieta adecuada e igual en todos los casos. Con ello se ha pretendido evitar la influencia sobre la sinaptogénesis cerebral

en general y de manera específica sobre el desarrollo de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la capa V de los dos factores siguientes: a) alimentación.- Ha sido ampliamente demostrado que distintos tipos de alimentación así como diferencias en la dieta originan variaciones en la sinaptogénesis cortical (CRAGG, 1972) SALAS y col., (1974) y DYSON y JONES (1976), en el desarrollo de potenciales evocados corticales (SALAS y col., 1977) y sobre la adquisición de células (WINICK y NOBLE, 1966) y BALAZS (1977).

b) Movilidad.- Riqueza de estímulos. Son también numerosos los estudios que demuestran la plasticidad neuronal frente al ambiente en las primeras etapas del desarrollo (Ver BENNETT y col., 1964; DIAMOND y col., 1964; HOLLOWAY, 1966 y GREENOUGH y col., 1973) entre otros.

Ultimamente RUIZ MARCOS y col. (1979) han puesto de manifiesto el efecto que la movilidad tiene en el desarrollo de la sinaptogénesis de la Corteza Visual y Motora.

B. ESQUEMA EXPERIMENTAL.- (Fig. 1).

De los 268 animales que integran este estudio, 108 fueron enucleados unilateralmente, 28 bilateralmente, 24 se destinaron al estudio de la integración entre la Eucleación-Oscuridad y 108 permanecieron como controles. La mecánica de formación de estos grupos experimentales fué la siguiente:

A los dos días después de nacer, todas las camadas, previamente igualadas a 8 crías, fueron divididas al azar en dos grupos de

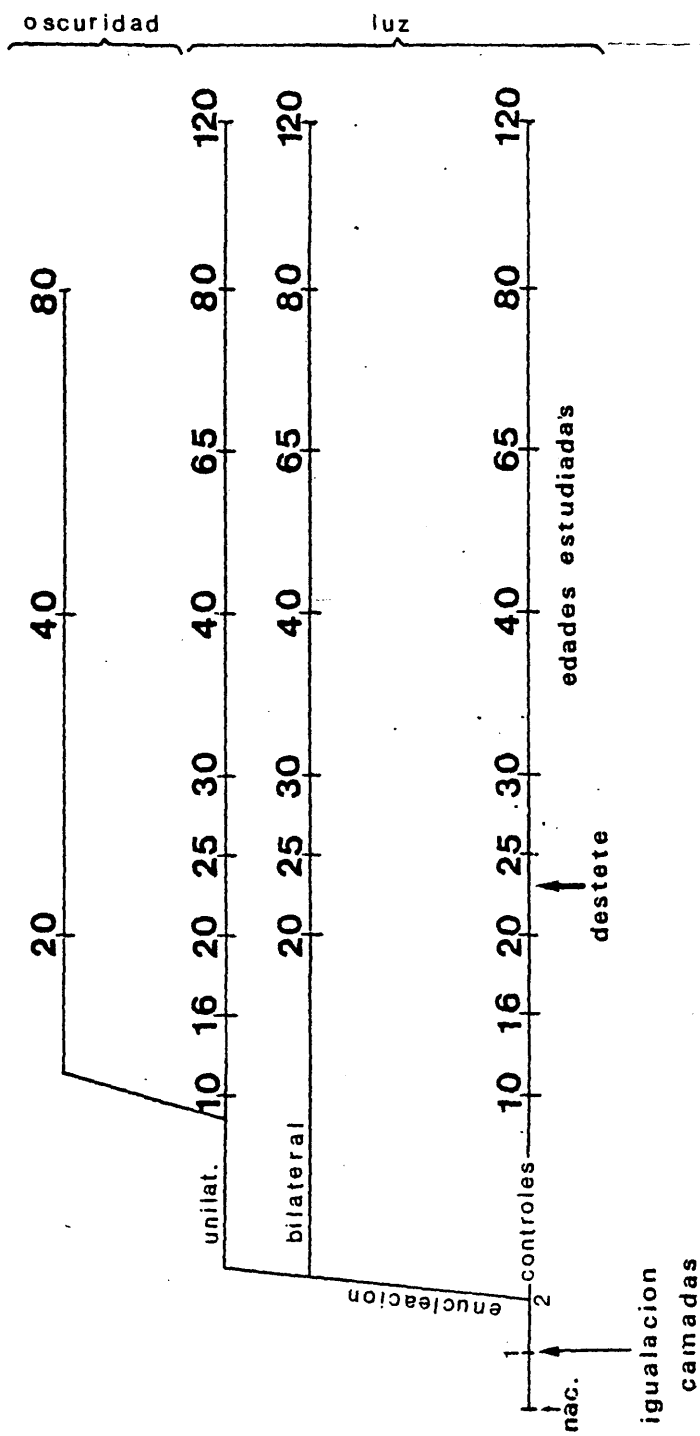


Figura 1.- Esquema del proceso experimental.

4 crias cada uno-. Los animales de uno de los grupos eran enucleados de uno o de los dos ojos mientras que el otro permanecía como control - (La operación de extirpación del globo ocular se hacía bajo ligera anestesia y trás haber despegado ligeramente el párpado).

- Para efectuar esta división no se tuvo en cuenta el sexo de los animales ya que previamente había sido comprobado que este factor no influye en el número medio de espinas dendríticas por neurona, variable esta tomada principalmente por nosotros como representativa del estado de desarrollo del cerebro.

Una vez efectuada la enucleación de los animales estos fueron sometidos a las siguientes condiciones experimentales:

1) Los animales tomados como controles crecieron en una parte del animalario en la cual la luminosidad fué la misma para todos ellos estando controladas las horas de luz mediante un reloj automático que permanecía 12 horas encendido y otras 12 apagado.

2) Las Ratas enucleadas unilateralmente y bilateralmente se desarrollan en condiciones normales de luz exactamente iguales a las de los controles.

3) Los animales enucleados criados en oscuridad.- Se desarrollan en un cajón especialmente habilitado con este fin. Sus dimensiones eran de 170 cm. x 50 cm. x 50 cm.; y las jaulas iban colocadas sobre unos barrotes. La caja se abría normalmente por arriba y por abajo, y a los lados se habían dispuesto dos respiraderos formados por láminas de madera entrecruzadas que no dejaban pasar la luz. También se preparó un ventilador que constantemente introducía

aire en la caja por un tubo. La hermeticidad de la caja de oscuridad se probó introduciendo dentro de la misma un trozo de película virgen, parte de la cual estaba metida dentro de un chasis y parte fuera. El trozo de película así preparado fué introducido en la caja por la noche en completa oscuridad y quedó dentro de ella durante tres días, periodo de tiempo al final del cual fué extraído y revelado, no notándose diferencia alguna en el trozo de película que quedó en el interior del chasis respecto del que quedó fuera expuesto a la posible cantidad de luz que pudiera penetrar en la caja.

Las edades a que se estudiaron las ratas fueron las siguientes según las diferentes condiciones experimentales consideradas (fig. 1).

- 10, 15, 20, 25, 30, 40, 65, 80 y 120 días las ratas controles.
- 10, 15, 20, 25, 30, 40, 65, 80 y 120 días las ratas enucleadas unilateralmente.
- 20, 25, 30, 40, 65, 80 y 120 días las doble enucleadas.
- 20 - 40 - 80 días las correspondientes al estudio interacción enucleación-oscuridad.

Para la elección del lapso de tiempo total y edades específicas de estudio nos hemos basado en resultados previos obtenidos por RUIZ MARCOS y VALVERDE (1969) y MATHERS y col. (1978), según los cuales la distribución de las espinas a lo largo de los tallos apicales de las neuronas piramidales evolucionan rápidamente en los 50 primeros días de edad del animal creciendo más lentamente a partir de este punto y hasta los 120 días de edad, lo cual nos permite suponer que el desarrollo del cerebro sufre una evolución semejante.

No se han considerado para el estudio de los diez primeros días del desarrollo debido al escaso número de espinas dendríticas que poseen las neuronas en este periodo.

C. PERFUSION DE LOS ANIMALES.-

La perfusión de los animales se realizó a las edades antes indicadas mediante inyección intraventricular de solución salina isotónica en cantidad suficiente para lavar completamente las estructuras cerebrales, seguida de inyección de formol al 10 % neutralizado a pH de 7.2. Este pH ha sido considerado (MORETS y MOREST, 1966) como el óptimo para la fijación de las neuronas y es aquel con el que el método GOLGI ha dado sus mejores resultados.

Previamente a la fijación, todos los animales fueron pesados con objeto de confirmar la independencia del desarrollo global de los animales respecto a la dieta y situaciones experimentales a las que estuvieron sujetos.

Antes de proceder a la extracción del cerebro, se comprobó que los animales experimentales estuvieran bien enucleados desechándose algunos casos en los que la destrucción del globo ocular no fué completa.

Trás extraer el cerebro se procedía a cortar la parte occipital del mismo que contiene la totalidad del área estriada visual primaria.

Las piezas no sobrepasaban los 3 mm. de grosor e incluían los dos hemisferios en los controles y animales doble enucleados mien-

tras que en los unilateralmente enucleados se separaban ambos hemisferios ya que, a fin de evitar confusiones, se estudiaron separadamente los hemisferios contralateral e ipsilateral al ojo enucleado.

D. TECNICA HISTOLOGICA.-

Las porciones occipitales de cerebro fueron teñidas según el método rápido de GOLGI de acuerdo con el proceder descrito por CAJAL en 1911 consistente en el siguiente proceso:

- Fijación durante dos días en formaldehído al 10% neutralizado a pH de 7.2.
- Inmersión de la pieza durante tres días en una solución osmio-dicromato potásico conteniendo 12 grs. de dicromato potásico y un gramo de ácido ósmico por cada 500 cc. de agua destilada. Se usó un mínimo de 20 cc. de esta solución para cada pieza.
- Breve lavado de la pieza en un pequeño volúmen de solución acuosa de nitrato de plata al 0.75% y almacenamiento durante 24 horas en la misma solución argéntica. Este último paso se realiza en completa oscuridad.

Posteriormente al proceso descrito la pieza de tejido se deshidrata en alcohol absoluto durante 5 minutos, embebiéndose a continuación en una mezcla 2:1 de parafina y vaselina para proceder al corte.

Dada las características y posición en el corte de los tallos apicales y con objeto de aumentar la probabilidad de obtener los enteros se obtuvieron secciones de 200 μ de espesor valiéndonos de

un microtomo de deslizamiento, los cuales eran lavados durante 15 minutos en alcohol absoluto. Después se transferían a terpinol durante otros 15 minutos y por último a xilol también durante 15 minutos.

Los cortes se montaban, después de eliminar el xilol, cubriéndolos con Caedax, no haciendo uso de cubreobjetos. Mediante este método se consiguen tinciones completas de las células nerviosas cuyos somas, dendritas, axones no mielinizados y finas arborizaciones terminales aparecen de color pardo oscuro sobre un fondo amarillento-rojizo.

El valor de la técnica de Golgi reside en el hecho de que solo un pequeño porcentaje de las neuronas se tiñen, lo cual permite el estudio completo de las células individualizadas.

La visualización clara de los Tallos Apicales de las neuronas piramidales con su contingente de Espinas Dendríticas (Figs. 2, 3 y 4) permite realizar un estudio cuantitativo fiable de las mismas.

E. OBTENCION DE DATOS.

Población y Muestra.

De cada uno de los grupos experimentales se eligió una muestra al azar compuesta de 20-30 tallos apicales completos y bien teñidos, es decir que reunían buenas condiciones para el conteo de las espinas, tomada de la población de Tallos Apicales pertenecientes a neuronas piramidales de la capa V. Con objeto de eliminar en lo posible el efecto que un animal en particular pudiera tener sobre los



Figura 2.- Detalle del Tallo Apical de una Neurona Piramidal de la capa V de la Corteza Visual de una rata de 16 días de edad. (Método de Golgi rápido. ampl. x320).



Figura 3.- Detalle del Tallo Apical de una Neurona Piramidal de la capa V de la Corteza Visual de una rata de 65 días de edad. (Método de Golgi rápido. ampl. x320).



Figura 4.- Detalle del Tallo Apical de una Neurona Piramidal de la capa V de la Corteza Visual de una rata de 20 días de edad. (Método de Golgi rápido. ampl. x500).

resultados obtenidos se procuró repartir uniformemente el número de neuronas entre los distintos animales estudiados. La delimitación topográfica del área visual primaria se ha hecho ateniéndose a los criterios de KRIEG (1946) según los cuales esta forma la mayor parte del tercio posterior del campo dorsal del hemisferio cerebral (fig. 5). Las capas se han localizado de acuerdo con la distribución y proporciones dadas por PARNAVELAS y col. (1977). La capa V, que contiene las grandes células piramidales objeto de nuestro estudio, se sitúa en la mitad interna de la corteza visual y tiene un espesor aproximado de 270 μ .

VARIABLES CONSIDERADAS EN EL PRESENTE ESTUDIO.

Con objeto de llegar a un conocimiento exhaustivo de los cambios producidos por las situaciones experimentales estudiadas en el desarrollo de la Corteza Cerebral de la Rata nos ha parecido conveniente la consideración de las siguientes variables:

- 1) Número Medio de Espinas Dendríticas por segmento de 50 μ tomado a lo largo del tallo apical.
- 2) Número Medio de Espinas Dendríticas por Tallo Apical.
- 3) Número Medio de Espinas por segmento de 50 μ según las porciones del tallo apical comprendidas en las distintas capas de la Corteza.
- 4) Número Medio de Espinas por micra (N° total de espinas/longitud dendrítica) existentes en las dendritas oblicuas de las neuronas piramidales de la capa V.

Todas estas variaciones fueron calculadas por un ordenador PDP 11/40, haciendo uso de una serie de programas realizados en el Depar

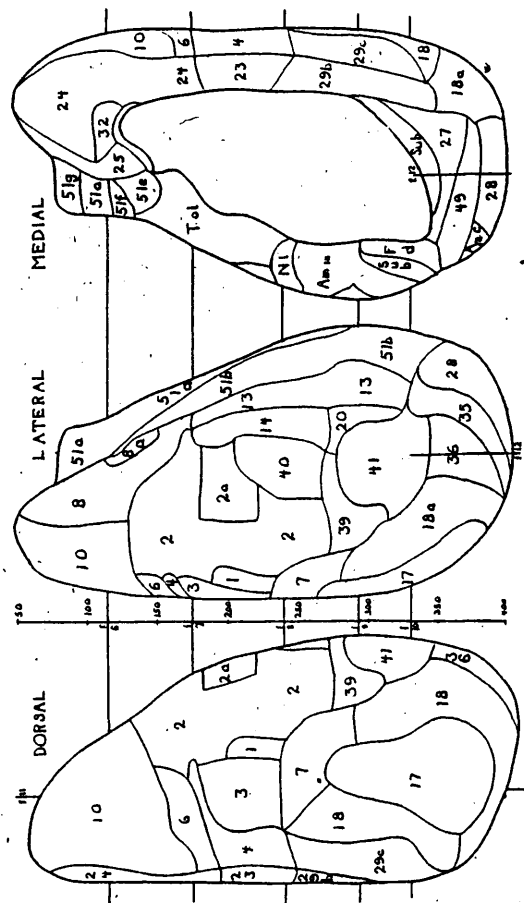


Figure 1

Figura 5.- Delimitación topográfica de las áreas corticales. (Según KRIEG, W.J.S. (1946)).

tamento de Biofísica, a partir del número de espinas existente en cada 50 μ de longitud de los tallos apicales contados desde el soma neuronal.

Esta operación de contaje fué realizada personalmente por el investigador en un microscopio Zeiss Standard-14 con un aumento de x 500 y con la ayuda de un microtomo ocular previamente calibrado (Fig. 6).

Los datos así obtenidos fueron ordenados y almacenados en la memoria del computador en forma de ficheros con objeto de poder ser procesados posteriormente con el Sistema de Programas del Departamento.

Cada fichero contiene los datos correspondientes a un grupo de animales de la misma edad y crecidos en la misma condición experimental. Lleva un nombre de acuerdo con un código mnemónico previamente establecido y está dividido en unidades independientes o "records", cada uno de los cuales contiene toda la información correspondiente a un tallo apical, que es la siguiente, por orden de escritura: (Fig. 7).

- N^o de la Rata = Número de orden del animal utilizado lo cual permite localizarle en un momento dado y conocer los pormenores de su desarrollo (peso, camada, etc.)

- Edad del animal a que pertenece esa neurona.

- Condición experimental del animal, según el código siguiente:

1. Para animales control.
2. Animales criados en oscuridad.
3. Animales enucleados, lado no afectado por la enucleación

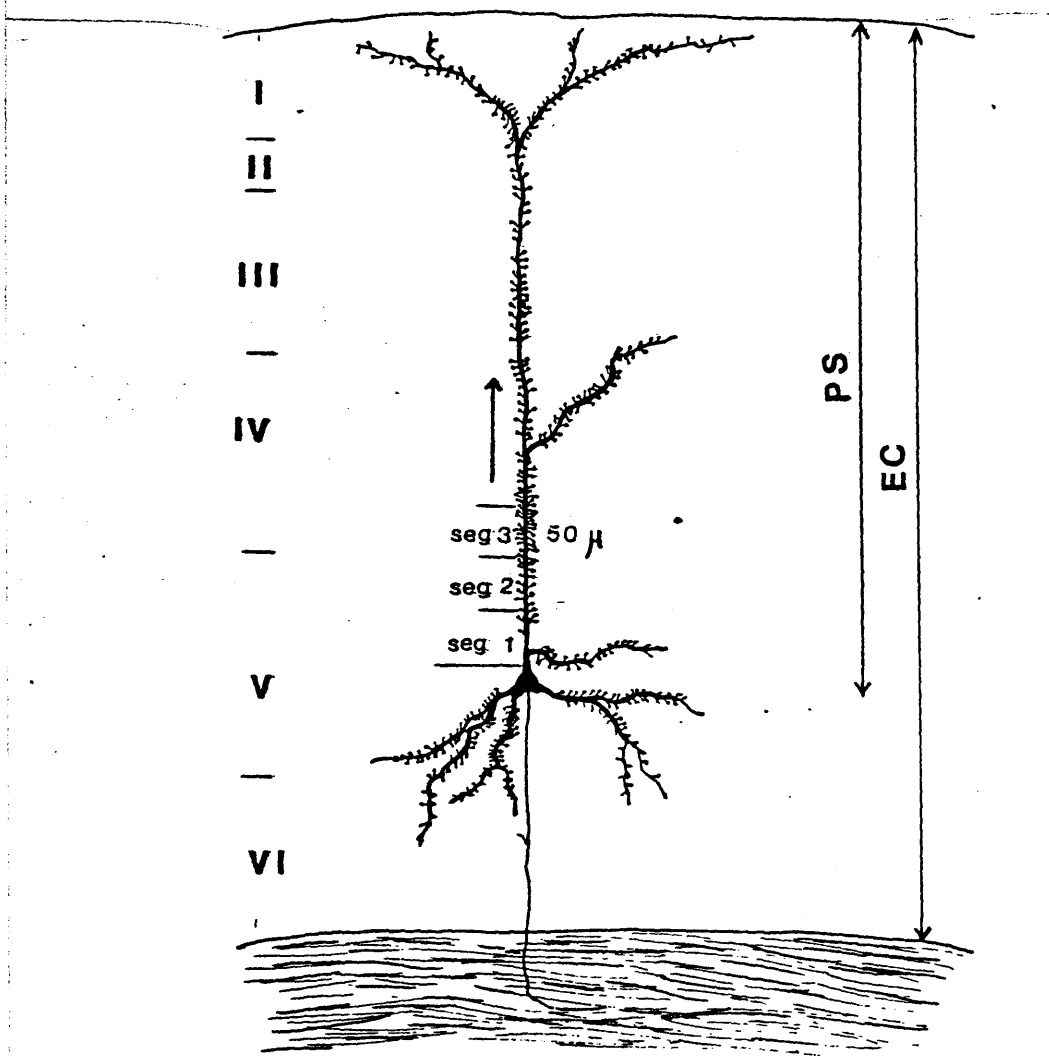


Figura 6.- Esquema de una Neurona Piramidal de la capa V mostrando, de forma gráfico el método de conteo de Espinas Dendríticas.
PS = Profundidad del Soma
EC = Espesor Cortical.

25

RATA	EDAD	CD	SG1	SG2	SG3	SG4	SG5	SG6	SG7	SG8	SG9	SG10	SG11	SG12	SG13	SG14	SG15	SG16	SG17	SG18	SG19	SG20	CORT.	SDM.	PROF.	NEU
146	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
146	I	I	01	221	371	471	371	321	301	281	311	271	211	181	161	131	131	131	01	01	01	01	01	01	01	10501
146	I	I	51	281	361	421	401	391	381	331	281	241	231	171	101	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8751
146	I	I	41	251	351	461	451	421	321	281	311	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8101
146	I	I	31	251	451	471	441	431	411	301	301	241	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8251
146	I	I	31	251	331	411	401	441	401	391	301	241	241	201	181	161	01	01	01	01	01	01	01	01	01	9151
146	I	I	01	281	461	461	621	421	441	431	371	311	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	7951
146	I	I	11	291	441	461	391	401	351	341	281	241	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	7651
147	I	I	11	211	441	471	401	361	391	331	251	221	211	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	7201
147	I	I	21	241	391	441	421	401	371	321	301	231	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8401
147	I	I	51	241	341	431	401	391	371	341	231	201	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	7351
147	I	I	61	331	361	451	451	401	331	271	271	231	201	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	7801
150	I	I	21	171	421	441	361	311	301	341	281	251	231	191	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8251
151	I	I	11	291	331	441	431	381	371	331	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8701
146	I	I	101	301	441	441	371	321	271	261	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8401
146	I	I	61	301	401	441	421	401	351	291	291	221	231	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	7501
146	I	I	51	181	211	431	461	451	381	431	361	361	281	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8251
146	I	I	71	291	391	331	371	331	301	341	201	211	191	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8401
146	I	I	51	241	361	431	421	411	311	311	281	241	231	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8101
146	I	I	51	231	341	411	401	391	361	321	271	241	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8101
130	I	I	41	271	361	421	411	381	361	331	321	321	261	221	211	191	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8251
131	I	I	31	241	341	431	421	371	371	321	301	271	221	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	10501
133	I	I	21	241	361	421	401	411	371	341	311	241	231	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	9901
134	I	I	61	251	371	441	411	361	331	321	281	291	231	201	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	8401
135	I	I	01	201	331	451	421	391	361	341	311	281	261	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	9301
135	I	I	31	231	351	421	411	381	351	331	301	241	251	221	181	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	9151

PAUSE --

FICHERO7 *

Figura 7.- Fichero de datos correspondiente a un grupo de ratas CONTROL de 40 días.

(LNA). (Lado no afectado).

4. Animales enucleados, lado afectado directamente (LA). (lado afectado).

5. Animales doble enucleados, etc.

- Número de espinas en cada segmento de 50μ en que ha sido dividido el tallo apical. Habiéndose previsto una longitud máxima de 1000μ se ha dejado sitio para 20 segmentos, llenándose con ceros aquellos segmentos en que no fué encontrada ninguna espina.

- Espesor total de la Corteza Visual en el punto en que está localizada la neurona.

- Grosor del soma celular. Dato que da una idea del tamaño y grado trófico de la neurona.

- Profundidad de la neurona, es decir distancia del soma celular a la superficie cortical.

- N^a de neurona, dentro del fichero.

Fueron almacenados en la memoria del ordenador ficheros con un total de aproximadamente 900 tallos apicales con una media de 25 tallos apicales por fichero de datos.

El contaje de espinas en las dendritas oblicuas se hizo de acuerdo con criterios semejantes a los ya expuestos pero considerando el total de la longitud dendrítica.

F. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS.

Los datos, organizados del modo expuesto en el apartado ante-

rior, fueron procesados según el siguiente sistema de programas FORTRAM.

1) Programa "ESPINAS".

Con este programa el ordenador comprueba si la distribución experimental de espinas encontrada a lo largo de los tallos apicales de neuronas de un determinado grupo de ratas se ajusta o no al Modelo Matemático descrito por RUIZ MARCOS y VALVERDE en 1969.

Para ello el computador realiza el proceso que esquemáticamente se describe a continuación:

En primer lugar calcular el número medio y la desviación típica de las espinas correspondientes a cada segmento de 50μ considerado a lo largo del tallo apical (distribución experimental). Posteriormente y con un procedimiento estadístico adecuado (VALVERDE y RUIZ MARCOS 1969), va a calcular las frecuencias teóricas de acuerdo con el Modelo Matemático que configuran el mejor ajuste teórico-experimental para las encontradas por nosotros. La bondad de tal ajuste, entre las frecuencias de ambas distribuciones, nos viene expresada por el valor de χ^2 correspondiente concluyendo que el ajuste es bueno, es decir que la distribución experimental cumple el Modelo Matemático, si el valor de χ^2 obtenido es menor al que corresponde a un nivel de significación del 5% de acuerdo con los correspondientes grados de libertad.

Hay que tener en cuenta que el número de grados de libertad será $n-3$, siendo n el número de clases considerado, es decir, segmentos dendríticos de 50μ . Tres es el número de variables que no son independientes, ya que para una serie determinada de frecuen-

cias teóricas los valores de IF, B y K que dan el χ^2 mínimo son parámetros de valor determinado.

La distribución de espinas encontrada y, por consiguiente, las modificaciones que una determinada situación experimental, en este caso la enucleación, introduce en ella, quedará determinada por el trío de valores de los parámetros K, B e IF.

Las Figs. 8 y 9 muestran una hoja de resultados de este programa en la que se puede ver el ajuste teórico (*) experimental (.) obtenido por el ordenador así como los valores del número medio de espinas por segmento (YE) y sus límites de confianza para el 95% (FLYE), los valores correspondientes a la distribución teórica (YET), los valores de los parámetros que intervienen en el ajuste (K, B, IF) y el correspondiente valor de χ^2 con el consiguiente nivel de ajuste. En el primer caso, que corresponde a ratas control de 16 días el ajuste es bueno con una $P > 99.5\%$ mientras que en la Fig. 9 correspondiente a animales doble-enucleados de 30 días no aparece ajuste.

2) Programa TOT. COM.

Este programa se ha utilizado para calcular, entre otras cosas, la variable Número de Espinas/Neurona de un determinado grupo de datos (fichero) realizando la comparación estadística de la misma respecto a la de otro fichero de datos dado.

Su esquema de funcionamiento es el siguiente: (fig. 10). Se facilita al ordenador el fichero (o ficheros) que queremos estudiar, los cuales se compondrían, como hemos dicho anteriormente, de "records" cada uno conteniendo la información completa de cada

ANALITICAL REPRESENTATION OF THE FUNCTION RELATING THE MEAN NUMBER OF SPINES PER UNIT SEGMENT ALONG APICAL DENDRITES AND THE DISTANCE FROM CELL BODY IN THE PYRAMIDAL CELLS OF AREA STRIATA OF THE RAT.
 DPT. BIOFISICA C.I.B. C.S.I.C. RUIZ-MARCOS SANCHEZ-TOSCANO.

RATS NUM. 167 131 132 133 166 167
 TOTAL DENDRITES 25

CONDICION CONTROL AGE 14DAYS YM 700.00 B -0.00033 K 1.00594 IF 0.00351

CHI VALUE 0.920 DEGREES OF FREEDOM 10 P BEYOND THE 99.5% LEVEL
 *****-YET-THEORETICAL VALUES-YE-EXPERIMENTAL VALUES

YE	FLYE	YET	X	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
1.60	0.66	1	25I*	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
8.36	1.85	10	75I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
15.64	2.99	15	125I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
20.00	3.44	19	175I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
20.46	2.74	21	225I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
22.40	3.66	21	275I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
21.32	2.75	21	325I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
21.44	3.80	21	375I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
20.41	3.55	19	425I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
19.53	3.82	18	475I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
17.77	3.47	17	525I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
13.50	3.67	15	575I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
15.00	4.72	14	625I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
EDADT=														

29

Figura 8.- Ajuste teórico-experimental de la distribución de Espinas Dendríticas correspondiente a un grupo de ratas CONTROL de 16 días. Programa ESPINAS.

ANALITICAL REPRESENTATION OF THE FUNCTION RELATING THE MEAN NUMBER OF SPINES PER UNIT SEGMENT ALONG APICAL DENDRITES AND THE DISTANCE FROM CELL BODY IN THE PYRAMIDAL CELLS OF AREA STRIATA OF THE RAT.
 DPT.BIOFISICA C.I.B. C.S.I.C. RUIZ-MARCOS SANCHEZ-TOSCANO.

RATS NUM. 5 4 7 8
 TOTAL DENDRITES 17
 CONDITION DOUBLE ENUCL. AGE 30 DAYS YH 700.00 B -0.00047 K 1.00195 IF 0.00340
 CHI VALUE 6.235 DEGREES OF FREEDOM 12 P BEYOND THE 0.0% LEVEL
 *****YET-THEORETICAL VALUES *****YE-EXPERIMENTAL VALUES

YE	FLYE	YET	X.	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
I														
I														
I	4.12	1.18	6	251			*							
I														
I	23.18	1.71	17	751		*								
I														
I	30.94	1.30	25	1251			*							
I														
I	35.29	1.30	29	1751			*							
I														
I	34.41	0.87	31	2251			*							
I														
I	32.53	0.87	32	2751			*							
I														
I	30.65	0.81	32	3251			*							
I														
I	28.88	0.75	31	3751			*							
I														
I	26.47	0.73	29	4251			*							
I														
I	24.69	0.50	27	4751			*							
I														
I	23.21	0.61	25	5251			*							
I														
I	22.67	0.63	23	5751			**							
I														
I	21.33	0.54	21	6251			*							
I														
I	20.00	1.96	18	6751			*							

Figura 9.- Ajuste teórico-experimental de la Distribución de Espinas Den dríticas de un grupo de ratas DOBLE ENUCLEADAS de 30 días. Programa ESPINAS.

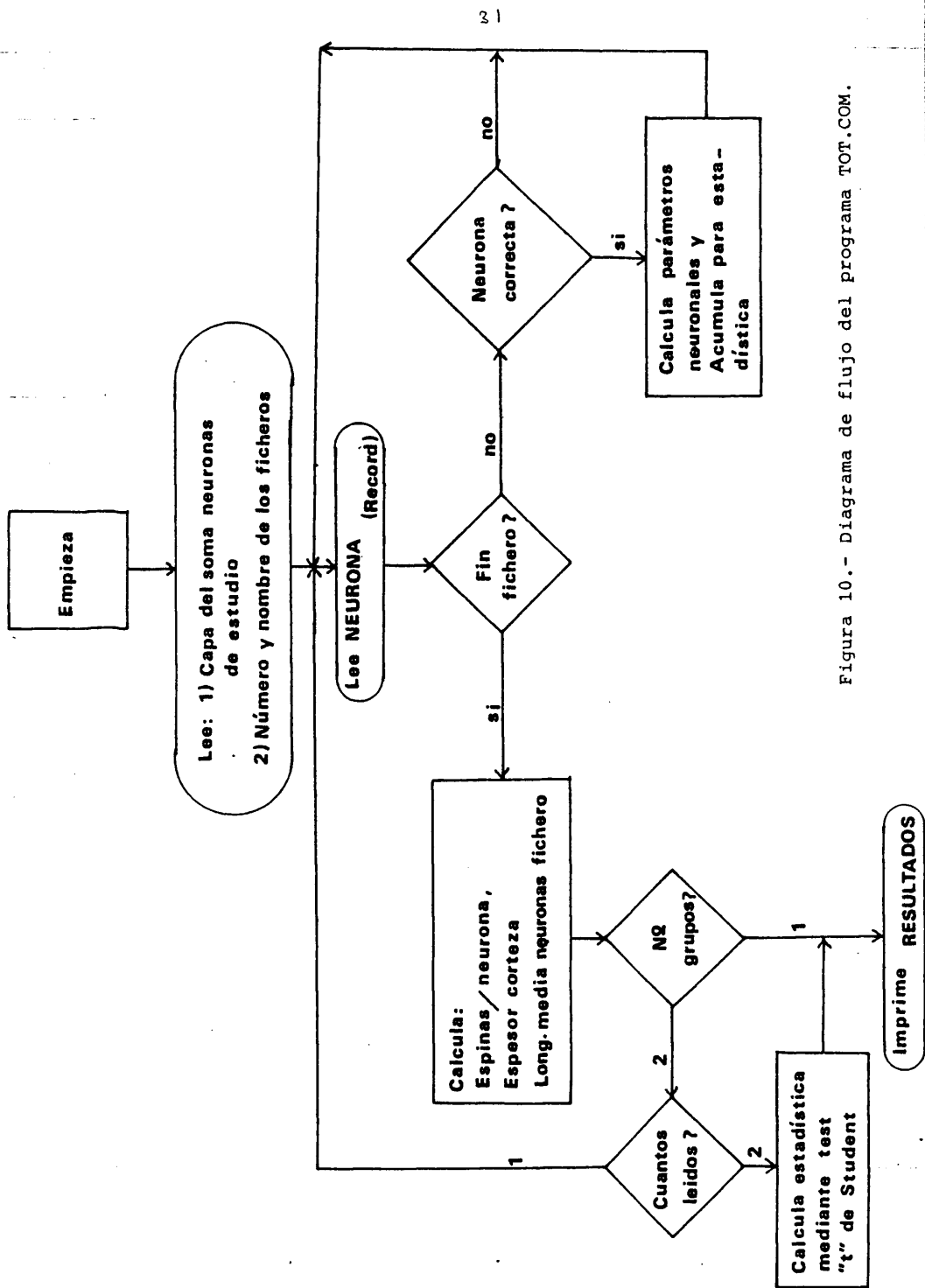


Figura 10.- Diagrama de flujo del programa TOT.COM.

tallo apical. Basándose en la profundidad del soma neuronal y en el espesor cortical total en este punto el ordenador selecciona solamente aquellas neuronas que cumplen dos requisitos:

- 1) estar contenidas en la capa de estudio correcta.
- 2) tener el tallo apical completo. Tomados como tal aquellos que llegan hasta la capa II a una distancia de 1/4 del espesor de la corteza visual.

En todas y cada una de las neuronas correctas el ordenador calcula la variable "Número de espinas a lo largo del tallo apical" y estos valores van siendo almacenados para realizar con ellos, posteriormente, los siguientes cálculos estadísticos:

- Medio aritmética de la variable citada.
- Desviación típica y varianza de este parámetro.

Además el programa está preparado para facilitar otros datos como longitud media de las neuronas, espesor medio de la Corteza etc.

El ordenador puede recibir como datos a analizar los correspondientes a un fichero o dos ficheros completos.

Si se le suministra un solo fichero de datos calcula los valores de las variables antes descritas pidiendo un nuevo estudio. En caso de serle suministrados dos ficheros de datos, además de calcular, para cada uno de ellos, los valores de las variables antes descritas, compara estadísticamente mediante el test "t" de STUDENT los valores encontrados para los dos grupos de datos diciendo si ha encontrado o no diferencia estadísticamente significativa, y a qué nivel, entre ellos.

3) Programa CAPAS.

El programa CAPAS, tiene básicamente un mecanismo similar al del programa TOT. COM. (Fig. 11). Nos permite estudiar, en un fichero determinado, la variable Número de Espinas por Segmento a lo largo del tallo apical según las distintas capas corticales, y realizan la comparación estadística de las mismas respecto a la de otro fichero dado.

Para ello se proporcionará al ordenador las capas corticales a estudiar (pueden estudiarse por separado o bien conjuntamente varias de ellas) y el fichero (o ficheros) de datos que debe analizar.

De igual forma que antes las neuronas son seleccionadas según el criterio de que su soma esté situado en la capa adecuada o no, pasando a continuación a "contar" el número de espinas correspondiente a cada capa de la corteza, para lo cual, y como dato fijo ya se ha programado cuales son los límites de cada capa, pasando a continuación a realizar la comparación estadística del número medio de espinas por capa mediante el test "t" de STUDENT, diciéndonos si existe o no diferencia estadísticamente significativa, y a qué nivel, entre el número medio de espinas correspondiente a cada capa.

4) El Análisis Estadístico del Número Medio de Espinas Dendríticas por micra en las ramas oblicuas fué llevado a cabo mediante tests de "t" de STUDENT realizados entre los diferentes grupos experimentales estudiados. Esta parte del trabajo se hizo con la ayuda de un pequeño calculador HP-25.

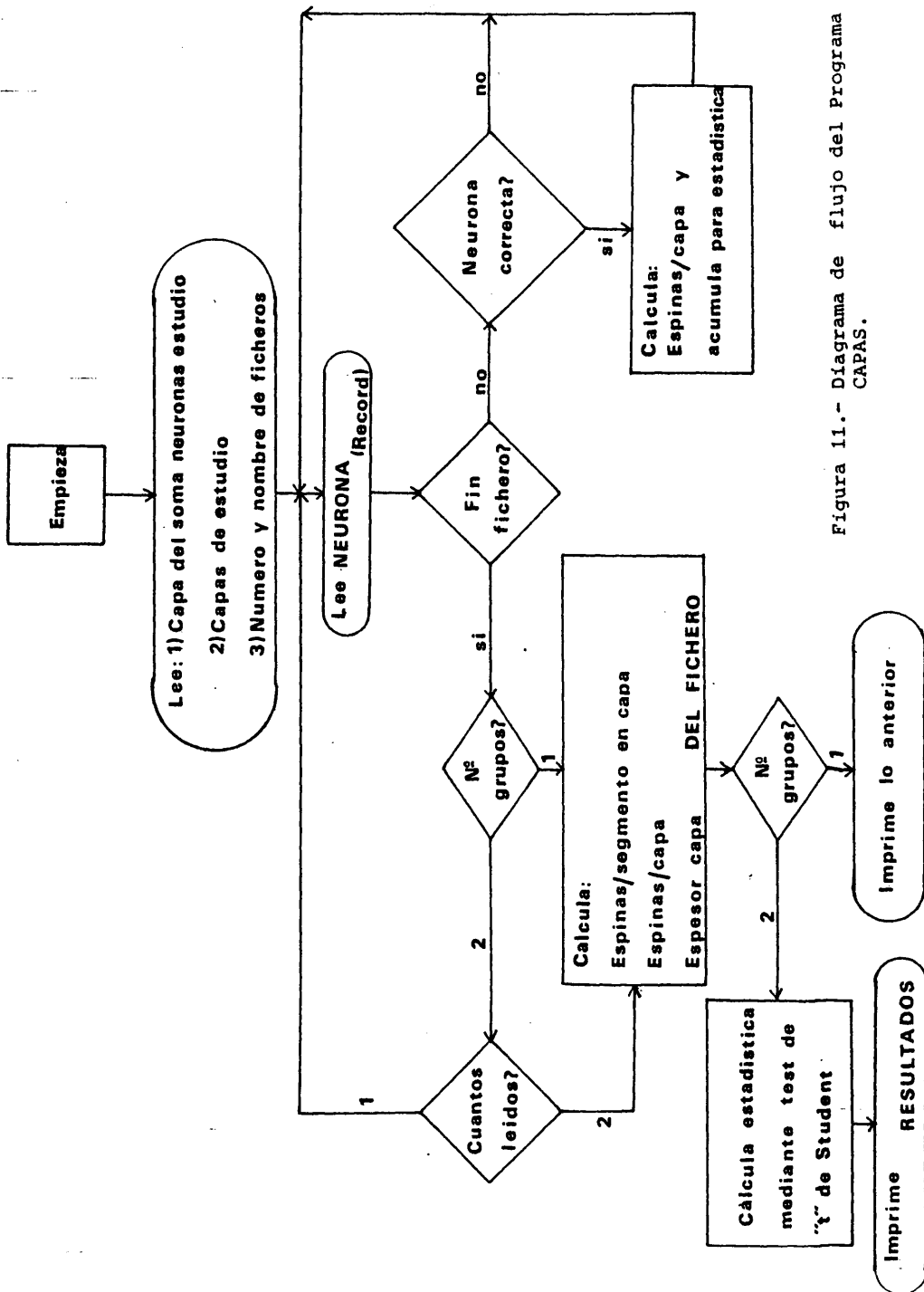


Figura 11.- Diagrama de flujo del Programa CAPAS.

35

RESULTADOS

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la presente tesis han sido divididos en una serie de apartados establecidos en función de la variable estudiada en cada caso:

- I) Resultados del estudio del Número de Espinas Dendríticas por Neurona.
- II) Resultados del Estudio del Número Medio de Espinas Dendríticas por segmento de 50μ a lo largo del Tallo Apical según las diferentes capas de la corteza.
- III) Resultados del estudio del Número Medio de Espinas Dendríticas por Micra en las Ramas Laterales del Tallo Apical.
- IV) Resultados obtenidos de la utilización del Modelo Matemático de distribución de espinas descrito por RUIZ MARCOS y VALVERDE (1969).

I) EVOLUCION DE LA VARIABLE NUMERO MEDIO DE ESPINAS DENDRITICAS
POR NEURONA.

El valor de esta variable, medida a lo largo de los tallos apicales de las neuronas piramidales de la capa V representa el número de sinapsis distribuidas en todo el espesor de la Corteza Cerebral comprendido entre las capas V y II.

La evolución de esta variable puede aportar datos del grado de maduración de la Corteza así como de la dinámica de desarrollo de la misma, de lo cual pueden sacarse consecuencias sobre la actividad funcional en unas determinadas condiciones experimentales y a diferentes edades de los animales.

I.1) ANIMALES CONTROL. DINAMICA DE LA SINAPTOGENESIS EN CONDICIONES NORMALES.-

La evolución del Número Medio de Espinas por Tallo Apical en animales Control, durante los primeros 120 días, puede verse en la figura 12.

La observación de esta gráfica nos dice que existe una formación muy grande de espinas durante los primeros 25 días del desarrollo, alcanzando los tallos apicales un 70% del total de espinas que se tendrán en estado adulto. Posteriormente, y a partir del día 30, aparece una sinaptogénesis suave hasta los 80 días y entre ambos periodos de crecimiento (25-30 días) hay un descenso transitorio del número de espinas que parece presentarse como "rebote" consiguiente al fuerte desarrollo anterior: Este efecto de rebote como

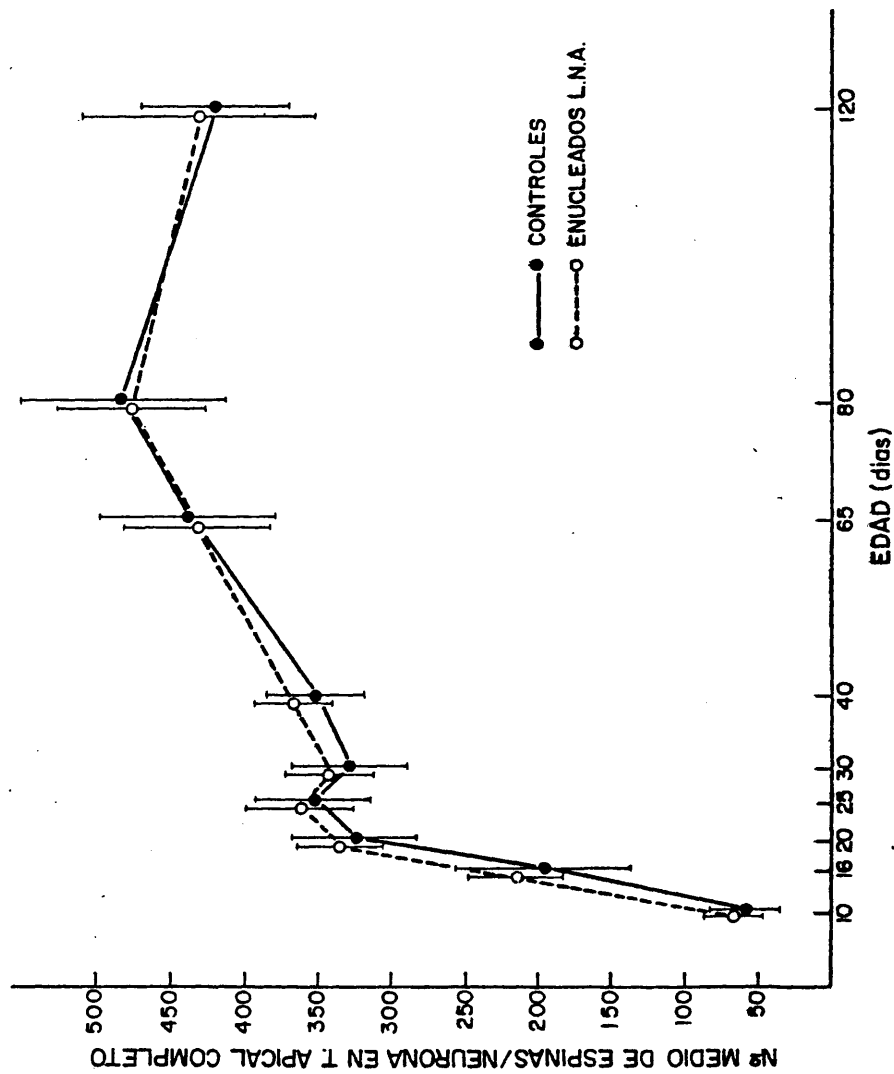


Figura 12.- Evolución del Número Medio de Espinas/Tallo Apical en ratas CONTROL MONOCU- LARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio ipsilateral al ojo enucleado).

comentaremos más adelante, puede achacarse a la apertura de los ojos del animal, fenómeno que, lógicamente, va a ser decisivo en el desarrollo de contactos sinápticos en la Corteza Visual.

El segundo periodo de crecimiento de espinas, que parece no estar ligado al fenómeno de apertura de los ojos, va acompañado de un aumento de la variabilidad de las neuronas en cuanto a su número de espinas dendríticas lo cual se refleja en un aumento de los valores de desviación típica que pasa de ser del orden de ± 40 a ± 70 , diferencia que, aunque según el test de F no es altamente significativa ($P < 0.1$) es un reflejo de lo anteriormente dicho.

I.2) ANIMALES ENUCLEADOS UNILATERALMENTE.

Lado no directamente afectado (L.N.A.). Dinámica de la sinaptogénesis en el hemisferio ipsilateral al ojo enucleado.

La figura 12 muestra una evolución del número de espinas dendríticas en el LNA de la Corteza Cerebral de animales enucleados en comparación con la de los controles ya considerada. En ambos casos se da el mismo tipo de desarrollo con los dos periodos de formación de espinas de intensidad semejante, e igualmente aparece el efecto de "rebote" comentado anteriormente, localizado entre los 25 y 30 días.

El estudio estadístico mediante el test de la "t" de STUDENT no dió diferencias significativas para la variable considerada a ninguna edad entre ambas condiciones control y experimental. Hace-

mos notar aquí que si bien no hay diferencias en cuanto al número medio de espinas por neurona estas sí aparecen cuando se comparan al n^o medio de espinas/segmento en las diferentes capas de la Corteza. Este punto y su posible significado será tratado más adelante.

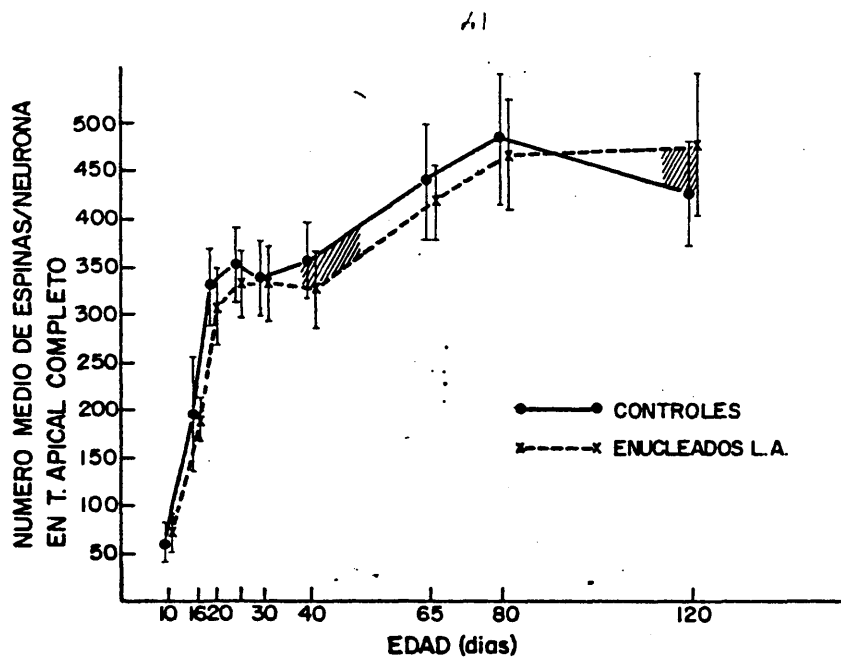
Lado directamente afectado (L.A.). Dinámica de la sinaptogénesis en el hemisferio contralateral al ojo enucleado.

Tal como se muestra en la fig. 13 Tabla I, la evolución del número de espinas por neurona en el hemisferio LA de animales enucleados en líneas generales semejante a la de los controles, apareciendo también los dos períodos de crecimiento de espinas características.

No obstante hay que hacer notar las siguientes diferencias:

- La no aparición del efecto de rebote después del primer período de desarrollo de espinas.
- La fuerza del primer período de desarrollo de espinas es algo menor que en controles pero las diferencias no son estadísticamente significativas. Únicamente a los 40 días existe una diferencia con $p < 0.01$, que se compensa posteriormente porque en estos animales el segundo período de formación de espinas se produce de manera similar a la de los controles.

Hay por tanto una recuperación progresiva después de los 40 días que se anula rápidamente (a los 65 ya está neutralizada) la diferencia encontrada a esa edad.



EDAD (dias)	CONTROL	ENUCLEADOS L.A.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
10	VM=60 DS=23	VM=69 DS=20	t=0.40	GL=38	NS
16	VM=94 DS=62	VM=192 DS=23	t=0.06	GL=17	NS
20	VM=331 DS=48	VM=303 DS=39	t=1.50	GL=21	NS
25	VM=355 DS=46	VM=330 DS=34	t=1.35	GL=23	NS
30	VM=337 DS=43	VM=334 DS=46	t=0.17	GL=35	NS
40	VM=351 DS=36	VM=322 DS=38	t=2.40	GL=36	p<0.01
65	VM=442 DS=62	VM=413 DS=42	t=1.47	GL=34	NS
80	VM=482 DS=78	VM=454 DS=62	t=0.87	GL=20	NS
120	VM=426 DS=55	VM=475 DS=79	t=1.99	GL=33	p<0.025

Figura 13 y Tabla I.- Evolución del número Medio de Esp./Tallo Apical en ratas MONOCULARMENTE ENUC. (hem.contralateral) y comparación estadística con las ratas CONTROL. En sombreado la zona de diferencia estadísticamente significativa.

I.3) ANIMALES DOBLE ENUCLEADOS.

Evolución del número de espinas por neurona con respecto a los
Controles y Enucleados L.N.A.

Dado que entre la evolución de las Cortezas de los Controles y Enucleados LNA no se han visto diferencias significativas hemos realizado la comparación tan solo con el LNA.

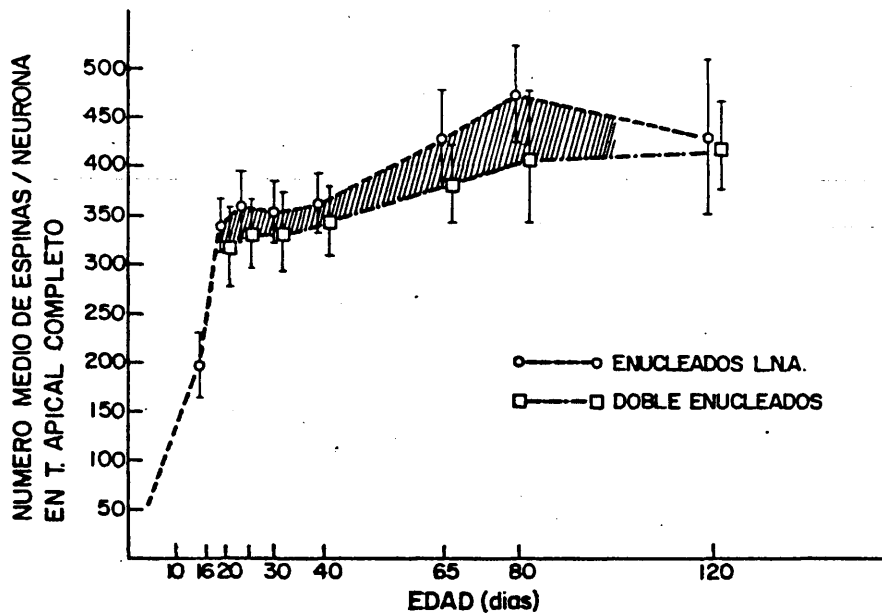
Como puede verse en la fig. 14 Tabla II las diferencias se extienden en todo el periodo estudiado, si bien a los 120 días quedan subsanadas, lo que indica una lenta y progresiva recuperación en la doble enucleación.

Las mayores diferencias entre ambas condiciones se dan a los 25 días como consecuencia de la menor intensidad de la primera formación de espinas que, como se verá en el punto siguiente, coincide plenamente con la del hemisferio afectado de animales enucleados unilateralmente, y a los 65 y 80 días debido a la no aparición de un neto segundo periodo de desarrollo de espinas.

A la falta de diferencia estadísticamente significativa a los 40 días no le hemos visto significado biológico alguno.

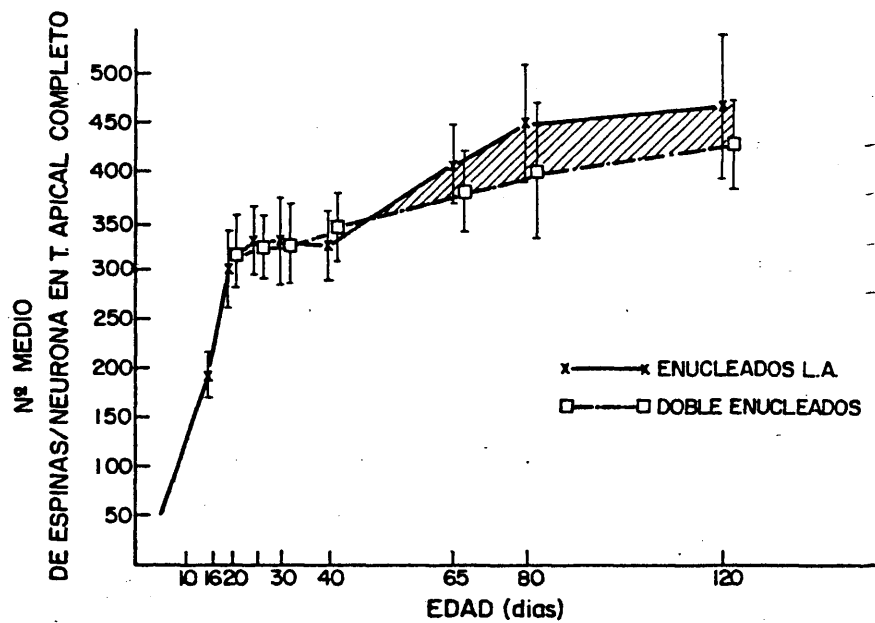
Evolución del número de espinas por neurona de un solo ojo con
respecto al lado afectado (LA) de animales enucleados. (Fig.
15, Tabla III).

No existen diferencias en el desarrollo durante los 30 primeros días, es decir el primer periodo de crecimiento de espinas que



EDAD (días)	ENUCLEADOS LNA	DOBLE ENUCL	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
20	VM= 340 DS= 26	VM= 314 DS= 38	t = 1.87	GL = 25	p < 0.05
25	VM= 360 DS= 36	VM= 324 DS= 33	t = 2.99	GL = 31	p < 0.005
30	VM= 355 DS= 30	VM= 331 DS= 38	t = 1.77	GL = 24	p < 0.05
40	VM= 366 DS= 27	VM= 343 DS= 33	t = 1.66	GL = 22	N.S.
65	VM= 433 DS= 54	VM= 378 DS= 37	t = 3.41	GL = 32	p < 0.005
80	VM= 472 DS= 56	VM= 402 DS= 73	t = 2.82	GL = 27	p < 0.005
120	VM= 431 DS= 83	VM= 423 DS= 45	t = 0.30	GL = 23	N.S.

Figura 14 y Tabla II.- Evolución del Número Medio de Esp./Tallo Apical en ratas BINOCULARMENTE ENUCLEADAS y comparación estadística respecto a las MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio ipsilateral). En sombreado la zona de diferencia estadísticamente significativa.



EDAD (días)	ENUCLEADOS L.A.	DOBLE ENUCL.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
20	VM = 303 DS = 39	VM = 314 DS = 38	t = 0.75	GL = 25	NS
25	VM = 330 DS = 34	VM = 324 DS = 33	t = 0.42	GL = 25	NS
30	VM = 334 DS = 46	VM = 331 DS = 38	t = 0.16	GL = 28	NS
40	VM = 322 DS = 38	VM = 343 DS = 33	t = 1.74	GL = 32	p < 0.05
65	VM = 413 DS = 42	VM = 378 DS = 37	t = 2.42	GL = 28	p < 0.025
80	VM = 454 DS = 62	VM = 402 DS = 73	t = 1.74	GL = 23	p < 0.05
120	VM = 475 DS = 79	VM = 423 DS = 45	t = 1.83	GL = 17	p < 0.05

Figura 15 y Tabla III.- Evolución del Número Medio de Esp./Tallo Apical en ratas BINOCULARMENTE ENUCLEADAS y comparación estadística respecto a las MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio contralateral). En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.

acompaña a la apertura de los ojos se da de forma semejante en ambas condiciones.

A los 40 días el número de espinas es ligeramente superior en doble enucleados y de los 40 a los 120 días el aumento que se produce en el L.A. (segundo proceso de formación de espinas) no se produce con la misma intensidad en los doble enucleados, lo que hace que haya diferencias estadísticamente significativas.

II) EVOLUCION DE LA VARIABLE NUMERO MEDIO DE ESPINAS DENDRITICAS POR SEGMENTO DE TALLO APICAL DE NEURONAS PIRAMIDALES SEGUN LAS DIFERENTES CAPAS DE LA CORTEZA.

La obtención de este dato mediante el programa CAPAS, nos ha permitido estudiar la densidad de espinas sinápticas en las capas IV y III de la Corteza Visual de nuestros animales controles y experimentales. La capa II no ha sido considerada ya que, debido a su superficialidad, no todas las neuronas piramidales estudiadas llegaban con sus tallos apicales hasta ella, bien por haber sido cortadas por el microtomo o bien porque se ramificaban a niveles más profundos con lo cual el número de datos era muy irregular e insuficiente.

Este estudio, como veremos a continuación, pone claramente de manifiesto la individualidad de las capas de la Corteza y su diferente evolución sinaptogénica durante el desarrollo y maduración. No obstante, hay que tener en cuenta una vez más, que la delimita

ción rígida y exacta de las capas, tal como nosotros la hemos realizado tiene un sentido práctico pero no un sentido fisiológico exacto, sin que se den en realidad esas demarcaciones tan netas.

A) DESARROLLO DE ESPINAS DENDRITICAS A NIVEL DE LA CAPA IV.

Según la distribución de capas corticales que hemos adoptado para nuestro estudio y que se corresponde con la dada por PARNAVELAS y col. en 1977, la capa IV o "lámina granularis" representa aproximadamente un sexto del espesor cortical ocupando una posición casi central en el mismo. Forma una lámina que oscila entre las 200-250 μ y en ella se encuentran fibras aferentes específicas genículo-corticales, células estrelladas, ramas descendentes de los sistemas axonales de las células de GOLGI tipo II de las capas III y II y las dendritas apicales de las grandes células piramidales de la capa V, objeto de nuestro estudio.

Las fibras aferentes específicas, que proceden del Núcleo Geniculado Lateral y son portadoras de los impulsos visuales, hacen sinapsis sobre las dendritas apicales de las neuronas piramidales de la capa V, bien directamente (GLOBUS y SCHEIBEL, 1967 a y b) o a través de interneuronas que posteriormente harían sinapsis con las piramidales (RUIZ MARCOS y VALVERDE, 1970; PETERS y FELDMAN, 1976, entre otros). En cualquier caso y como veremos más adelante los resultados obtenidos en esta tesis muestran que el estado funcional de la vía sensorial aferente y el número de impulsos que llegan al Cortex Visual por la misma tienen un papel importante en la

sinaptogénesis de la capa IV.

1) Animales CONTROL. Dinámica de la sinaptogénesis de la capa IV en condiciones normales. Fig. 16.

Se ha observado un aumento muy grande en el número medio de espinas por segmento durante los primeros 25 días de vida del animal, alcanzando esta capa a esta edad el 80% del total de espinas que mantendrá hasta la última edad estudiada (120 días). A continuación y aunque de una forma más atenuada se observa el mismo efecto de "rebote" ya descrito al considerar el número de espinas por neurona a lo largo de la totalidad del Tallo Apical.

Posteriormente entre los 30 y los 80 días, existe un segundo periodo de crecimiento de espinas el cual es menos intenso que el del Tallo Apical completo. Esto nos muestra que el desarrollo de espinas post-sinápticas en la capa IV se lleva a cabo casi en su totalidad durante los 25 primeros días de vida postnatal en la Rata, periodo que nosotros consideramos crítico en la maduración de la Corteza Visual y que acompaña a la apertura de ojos del animal que se produce alrededor del día 14 de vida postnatal.

2) Animales ENUCLEADOS.

Lado no directamente afectado (L.N.A.). Dinámica de la sinaptogénesis de la capa IV en el hemisferio ipsilateral al ojo enucleado.

Como se puede ver en la fig. 17, el desarrollo del número de espinas por segmento de la capa IV en el hemisferio LNA es semejan

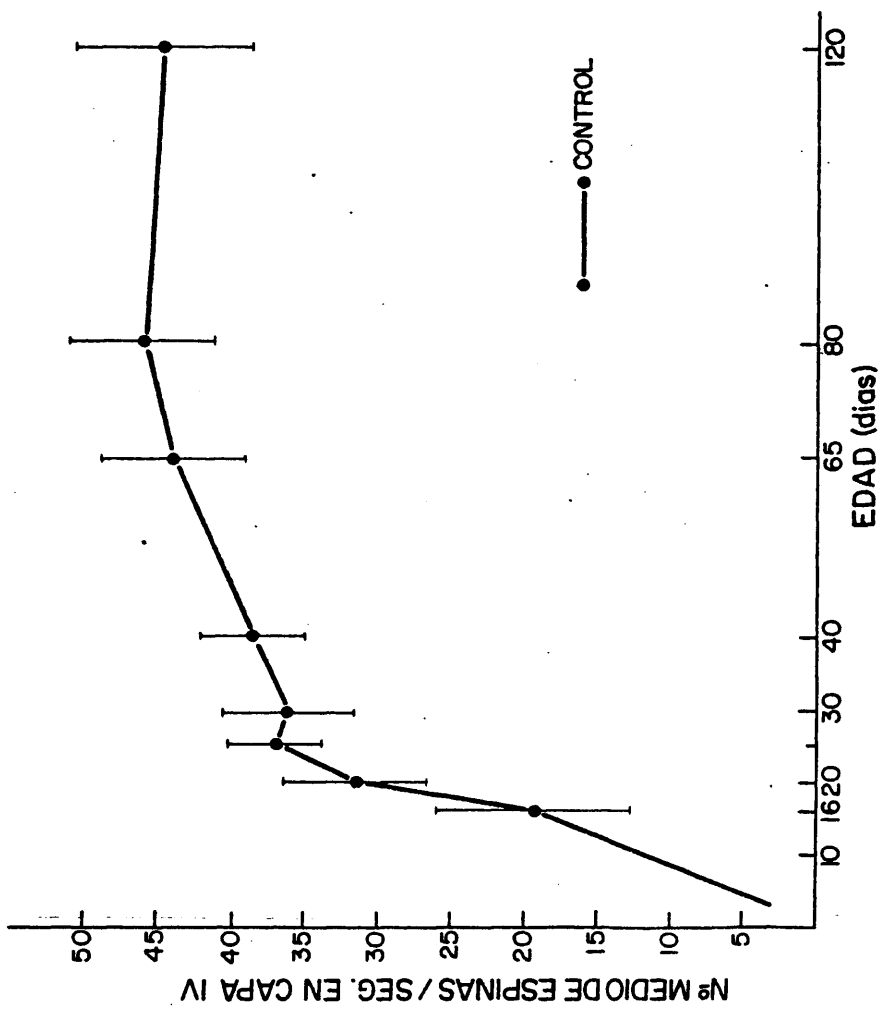


Figura 16.- Evolución del Número de Esp./seg. en la capa IV en ratas CONTROL.

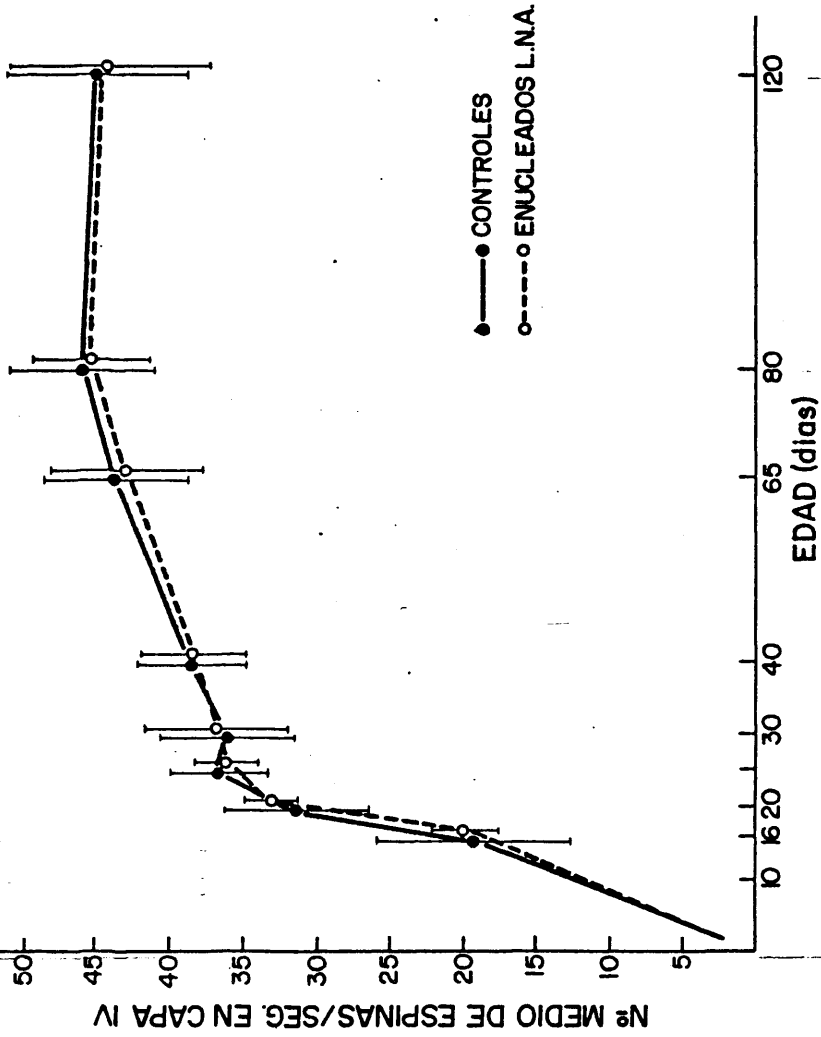


Figura 17.- Evolución del Número de Esp./seg. en la capa IV de ratas CONTROL y MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio ipsilateral).

te completamente al de los controles.

El análisis estadístico realizado a cada edad mediante el test "t" de STUDENT no ha mostrado diferencias significativas, por lo que podemos pensar que los impulsos nerviosos que llegan a través de la vía óptica no degenerada por la enucleación, no altera la sinaptogénesis normal de la capa IV del hemisferio correspondiente.

Lado directamente afectado (L.A.). Dinámica de la sinaptogénesis de la capa IV en el hemisferio contralateral al ojo enucleado. Fig.

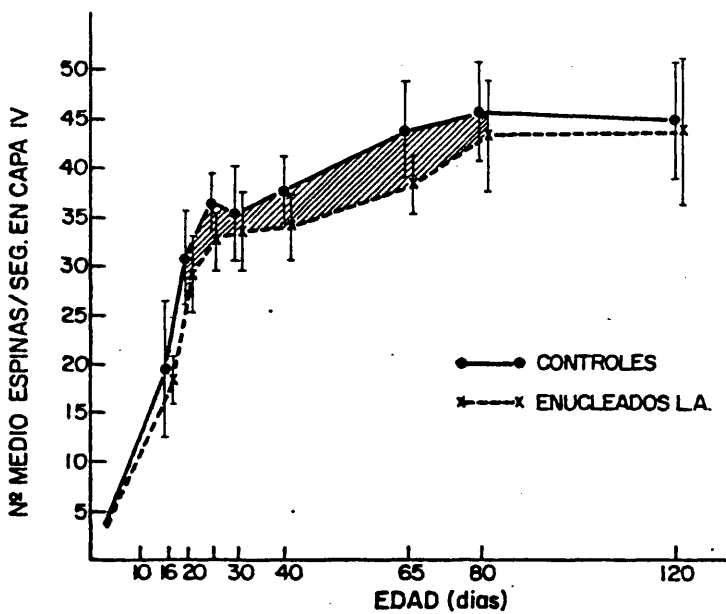
18. Tabla IV.

Observamos los siguientes procesos:

- Una primera formación de espinas atenuada que supone la formación de algo menos del 70% del total de espinas dendríticas que encontramos a los 120 días. Este porcentaje es sensiblemente inferior al representado por el primer periodo de desarrollo en los controles y sugiere un cierto retraso en la maduración de esta capa en estas condiciones.

- Un segundo periodo de crecimiento de espinas localizado entre los 60 y 80 días, tras la cual, el número de espinas dendríticas alcanza en la situación experimental estudiada valores semejantes a los controles.

Tenemos, por lo tanto, que la primera intensidad de la primera oleada determina un periodo entre los 25 y 65 días en el cual existen diferencias estadísticamente significativas de los valores de la variable en cuestión entre los controles y los enucleados L.A.



EDAD (días)	CONTROL	ENUCLEADOS LA.	t*	GRADOS DE LIBERTAD	P
16	VM=19.2 DS= 7.0	VM=18.3 DS= 2.2	t=0.38	GL=30	NS
20	VM=31.1 DS= 4.7	VM=29.4 DS= 4.0	t= 1.21	GL=37	NS
25	VM=36.8 DS= 3.2	VM=31.8 DS= 3.1	t=4.63	GL=33	p<0.005
30	VM=35.5 DS= 4.7	VM=32.9 DS= 4.3	t=1.89	GL=41	p<0.05
40	VM=37.7 DS=3.5	VM=34 DS= 3.5	t=3.62	GL=47	p<0.005
65	VM=44.3 DS= 5.	VM=37.8 DS= 2.8	t=5.40	GL=45	p<0.005
80	VM=45.7 DS= 5.3	VM=42.9 DS= 6.1	t=1.51	GL=36	NS
120	VM=44.5 DS= 6.4	VM=43.4 DS= 8.	t=0.51	GL=49	NS

Figura 18 y Tabla IV.- Evolución del Número de Esp./seg. en la capa IV de ratas MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio contralateral) y comparación estadística respecto a las CONTROLES. En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.

Estas diferencias son subsanadas posteriormente tras el segundo periodo de desarrollo el cual es especialmente intenso entre los 65 y los 80 días de edad.

Evolución de la variable estudiada en el hemisferio afectado por la enucleación (LA) en relación con el hemisferio no directamente afectado (LNA). (Fig. 19- Tabla V).

Como consecuencia de la identidad de controles y enucleados LNA, las diferencias entre LA y LNA son semejantes a las vistas en tres Controles y LA.

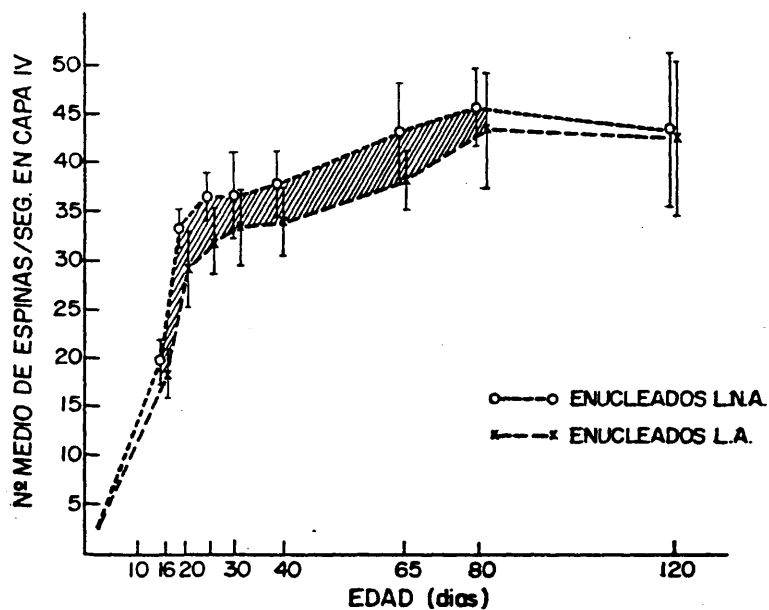
Unicamente cabe destacar que en este caso la diferencia es estadísticamente significativa a partir de los 16 días, edad a partir de la cual tiende a aumentar.

El proceso de recuperación que igualará ambos hemisferios tras la segunda oleada de crecimiento se produce de la misma forma que ya habíamos visto.

3) Animales DOBLE ENUCLEADOS.

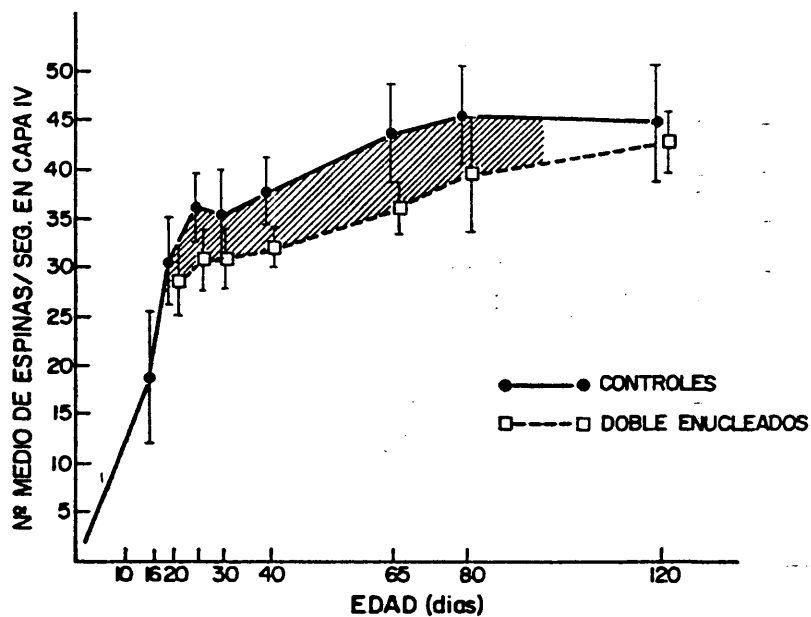
Evolución del Número Medio por Segmento, con respecto a los Controles y Enucleados L.N.A. Fig. 20- Tabla VI.

El tipo de desarrollo de espinas de la capa IV en Doble Enucleados presenta los mismos elementos mencionados anteriormente al referirnos al lado afectado de los animales unilateralmente enucleados. El primer periodo de crecimiento de espinas, que tiene una in-



EDAD (días)	ENUCL. L.N.A.	ENUCL. L.A.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
16	VM=19.9 DS= 2.1	VM=18.3 DS= 2.2	t=1.93	GL=27	p 0.050
20	VM=33.1 DS= 1.5	VM=29.4 DS= 4.0	t=3.62	GL=35	p 0.005
25	VM=36.4 DS= 2.3	VM=31.8 DS= 3.1	t=5.06	GL=33	p 0.005
30	VM=36.6 DS= 4.7	VM=32.9 DS= 4.3	t=2.60	GL=36	p 0.01
40	VM=37.6 DS= 3.5	VM=34 DS= 3.5	t=3.39	GL=44	p 0.005
65	VM=43.4 DS= 5.7	VM=37.8 DS= 2.8	t=4.07	GL=40	p 0.005
80	VM=45.4 DS= 3.8	VM=42.9 DS= 6.1	t= 1.57	GL=38	NS
120	VM=44.1 DS= 8.7	VM=43.4 DS= 8.0	t= 0.25	GL=39	NS

Figura 19 - Tabla V.- Evolución del Número de Esp./seg. en la capa IV de ratas MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio contralateral) y comparación estadística respecto al hemisferio ipsilateral. En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.



EDAD (días)	CONTROL	DOBLE ENUCL.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
20	VM=31.1 DS= 4.7	VM =28.6 DS = 3.1	t =1.90	GL =36	p 0.05
25	VM=36.8 DS= 3.2	VM =31.5 DS = 2.3	t =6.18	GL =37	p 0.005
30	VM=35.5 DS= 4.7	VM =31.4 DS = 2.1	t =3.28	GL =37	p 0.005
40	VM=37.7 DS 3.5	VM =32.1 DS = 1.6	t =6.20	GL=38	p 0.005
65	VM=44.3 DS = 5.	VM =36.0 DS = 2.2	t =6.61	GL=41	p 0.005
80	VM=45.7 DS= 5.3	VM =39.2 DS = 6.0	t =3.48	GL=35	p 0.005
120	VM=44.5 DS= 6.4	VM =42.8 DS = 2.4	t =0.91	GL =42	NS

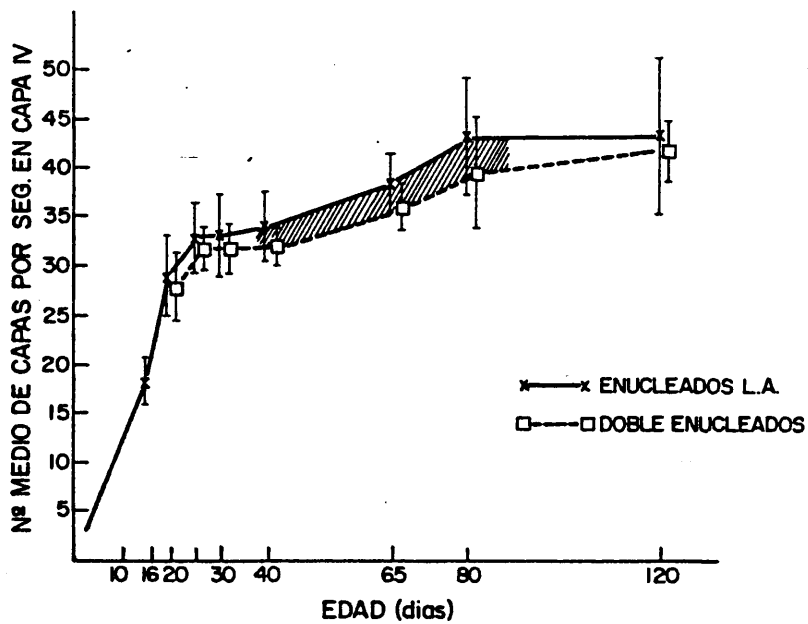
Figura 20 y Tabla VI.- Evolución del Número Esp./seg. en capa IV en ratas BINOCULARMENTE ENUCLEADAS y comparación estadística respecto a las CONTROLES. En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.

tensidad muy inferior a la de la condición normal, es seguido por el periodo de estabilización y posteriormente de la segunda formación de espinas que hace que se produzca la recuperación tardía ya descrita para la enucleación unilateral (LA) a los 120 días.

El periodo en que existe diferencia estadísticamente significativa entre las variables, es el comprendido entre los 20-80 días siendo particularmente intensas las diferencias a los 40 y a los 65 días.

Evolución del Número Medio de Espinas por Segmento con respecto a los animales Enucleados L.A.

Como puede verse en la Fig. 21, Tabla VIII y tal como decíamos antes, la forma de afectarse la evolución del número de espinas en la capa IV del Cortex Visual de animales doblemente enucleados es muy similar a la de animales unilateralmente enucleados L.A. Sin embargo, al estudiar el periodo de recuperación ya mencionado anteriormente, correspondiente al segundo periodo de formación de espinas que comienza a partir de los 30 días de edad observamos que en animales doble enucleados es más lenta y suave que en los animales enucleados de un solo ojo, lo cual hace que entre los 40 y los 80 días aparezcan diferencias no muy marcadas que desaparecen a los 120 días. Este hecho refleja la influencia funcional que en la maduración de la corteza tiene la llegada de los impulsos nerviosos lo cual será discutido más adelante.



EDAD (días)	ENUCL. L.A.	DOBLE ENUCL.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
20	VM=29.4 DS= 4.0	VM=28.6 DS= 3.1	t=0.65	GL= 37	NS
25	VM=31.8 DS= 3.1	VM=31.5 DS= 2.3	t=0.60	GL= 32	NS
30	VM=32.9 DS= 4.3	VM=31.4 DS= 2.1	t=1.31	GL= 34	NS
40	VM=34 DS= 3.5	VM=32.1 DS= 1.6	t=2.10	GL= 43	p<0.025
65	VM=37.8 DS= 2.8	VM=36.0 DS= 2.2	t=2.23	GL= 38	p<0.025
80	VM=42.9 DS= 6.1	VM=39.2 DS= 6.0	t= 1.84	GL= 35	p<0.05
120	VM=43.4 DS= 8.0	VM=42.8 DS= 2.4	t=0.29	GL= 31	NS

Figura 21 y Tabla VII.- Evolución del Número Esp./seg. en capa IV de ratas BINOCULARMENTE ENUCLEADAS y comparación estadística respecto a las MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio contralateral). En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.

B) DESARROLLO DE ESPINAS DENDRITICAS A NIVEL DE LA CAPA III.

Según las distribución de capas adoptadas, la capa III tiene un espesor ligeramente mayor al de la capa IV, oscilando entre 260 μ y 280 μ según el espesor total de la Corteza Visual. En esta capa se encuentran:

- Células Piramidales medianas y grandes.
- Células de Axon Corto ascendente, horizontal o descendente de morfología variada y difícil sistematización.
- Fibras nerviosas con dos procedencias y significados: 1) Aferencias específicas genículo-corticales, como las ya vistas en relación a la capa IV, las cuales sinaptan en un menor porcentaje a nivel de la capa III. Son portadoras de estímulos visuales procedentes del ojo contralateral al hemisferio considerado.
- 2) Fibras de procedencia intrahemisférica e interhemisférica que ingresan a este nivel a través del Cuerpo Caloso o por otras vías. Como veremos en la discusión los trabajos referentes a estas vías son a veces contradictorios y no muestran conclusiones muy concretas por lo que las conexiones no están establecidas de una forma clara.

No obstante, lo que sí puede afirmarse es que la capa III tiene influencias intracerebrales para su maduración, además de las sensoriales, lo cual se manifestará en las características de su sinaptogénesis.

- 1) Animales CONTROL. Dinámica de la sinaptogénesis de la capa III en condiciones normales. (Fig. 22).

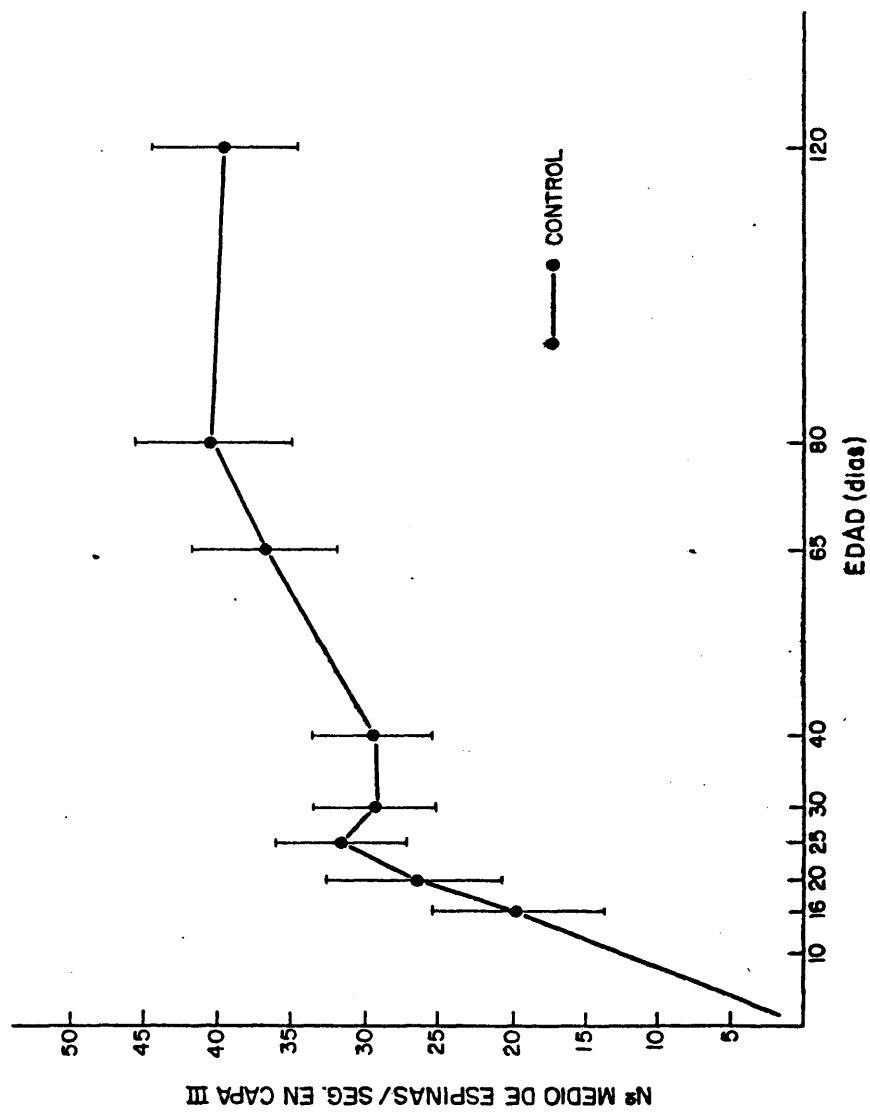


Figura 22.- Evolución del Número de Esp./seg. en capa III en ratas CONTROLES.

Se observan aquí también dos periodos de desarrollo sinaptogénico u oleadas de crecimiento de espinas, separados por un periodo de retroceso ("rebote") y una estabilización posterior. El primero de ellos está comprendido entre el nacimiento y los 25 días de edad y representa aproximadamente la formación del 70% del total de espinas sinápticas del adulto, algo menos que lo producido por el mismo proceso en la capa IV.

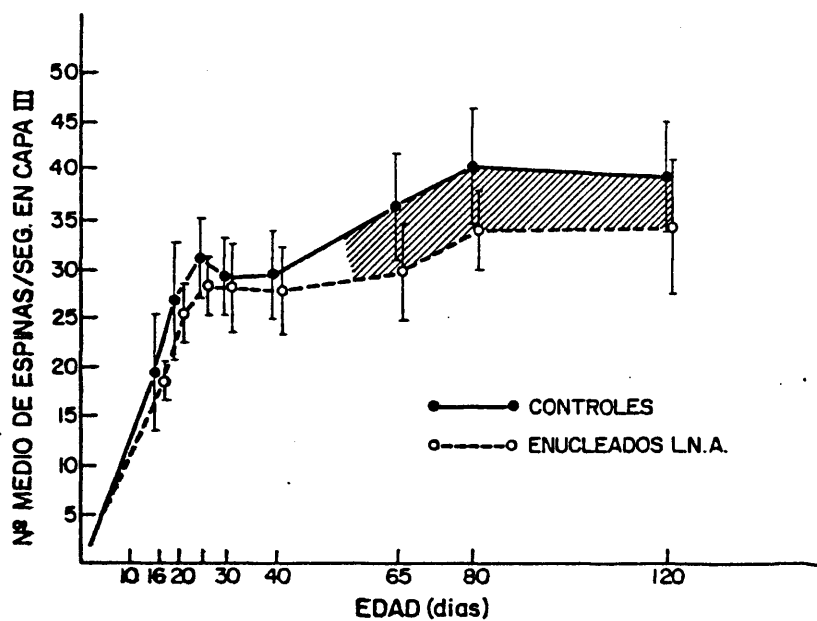
La segunda oleada se localiza claramente entre los 40 y los 80 días y adquiere aquí mayor importancia que en la capa IV elevando el número de espinas por segmento hasta un valor que no sufrirá variación posteriormente.

2) Animales ENUCLEADOS.

Lado no directamente afectado (L.N.A.). Dinámica de la sinaptogénesis en la capa III del hemisferio ipsilateral al ojo enucleado.

Como puede verse en la Fig. 23. Tabla VIII, la evolución del número medio de espinas por segmento en el LNA de animales enucleados, se diferencia fundamentalmente de la de los controles en que la segunda producción de espinas está muy disminuida. Esto hace que aparezcan diferencias estadísticamente significativas entre ambas condiciones a partir de los 40 días, las cuales persisten a los 120 días. No se produce pues el proceso de recuperación tardía que habíamos visto como fenómeno generalizado en la capa IV.

Durante el primer periodo de desarrollo de espinas y estabilización siguiente no se producen diferencias entre ambos procesos, excepto a los 25 días, edad a la cual aparece una diferencia estadísticamente significativa que se compensa inmediatamente a los 30.



EDAD(días)	CONTROLES	ENUCL. L.N.A.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
16	VM=19.8 DS= 6.9	VM= 18.2 DS= 1.6	t=0.93	GL= 39	NS
20	VM=26.4 DS= 6.6	VM=25.2 DS= 2.6	t=0.71	GL= 32	NS
25	VM=31.3 DS= 3.7	VM=28.3 DS= 2.7	t=2.85	GL= 36	p<0.005
30	VM=28.8 DS= 4.2	VM=28.2 DS= 4.5	t=0.45	GL= 37	NS
40	VM=29.0 DS= 4.6	VM=27.5 DS= 4.7	t= 1.01	GL= 37	NS
65	VM=36.0 DS= 5.2	VM=29.5 DS= 5	t=4.23	GL= 43	p<0.005
80	VM=40.8 DS= 5.9	VM=33.7 DS= 3.9	t=4.56	GL= 38	p<0.005
120	VM=39.1 DS= 5.6	VM=33.6 DS= 7.0	t=3.04	GL= 48	p<0.005

Figura 23 y Tabla VIII.- Evolución del Número de Esp./seg. en la capa III de ratas MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio ipsilateral) y comparación estadística respecto a las CONTROLES.
En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.

La explicación de esta diferencia es el efecto de "rebote" existente en los controles, no existente en el hemisferio LNA de los animales enucleados.

Hay que llamar la atención sobre dos hechos fundamentales en lo que llevamos dicho:

1) Que el primer periodo de desarrollo de espinas no se afecta apenas, lo cual confirma la supuesta relación entre él y el proceso de apertura de ojos del animal, el cual lógicamente no tendría porqué afectar el lado de la corteza sobre el que proyecta el ojo intacto.

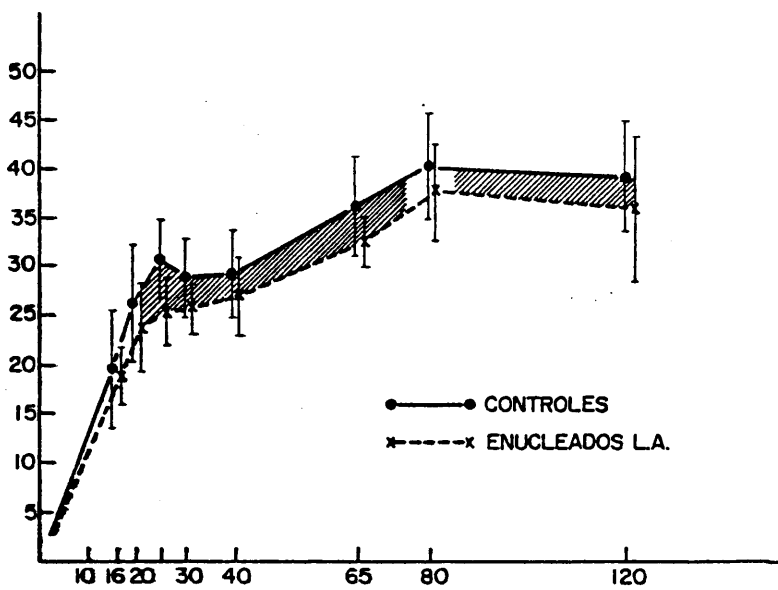
2) Que la segunda oleada de crecimiento de espinas sí está afectada de modo importante en este caso. Partiendo de la base que tal perturbación solo puede proceder de la alteración introducida por la enucleación y la consiguiente degeneración de la vía óptica se podría pensar de modo hipotético que el efecto podría producirse bien a través de las conexiones directas ipsilaterales o bien por una influencia interhemisférica procedente del hemisferio LA directamente afectado por la enucleación.

Esta última posibilidad, la cual se ve robustecida con los resultados que se exponen a continuación será considerada ampliamente en la discusión.

Lado directamente afectado (L.A.). Dinámica de la sinaptogénesis en la capa III del hemisferio contralateral al ojo enucleado. (Fig.

24 - Tabla IX).

Los procesos que pueden señalarse son los siguientes:



EDAD (días)	CONTROLES	ENUCL. L.A.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
16	VM=19.8 DS= 6.9	VM=19.2 DS= 2.6	t=0.23	GL=30	NS
20	VM=26.4 DS= 6.6	VM=24.1 DS= 4.7	t= 1.27	GL=36	NS
25	VM=31.3 DS= 3.7	VM=25.2 DS= 3.3	t= 4.52	GL=29	p<0.005
30	VM=28.8 DS= 4.2	VM=25.7 DS= 2.2	t=2.91	GL=40	p<0.005
40	VM=29.0 DS= 4.6	VM=26.3 DS= 3.9	t= 2.20	GL=46	p<0.025
65	VM=36.0 DS= 5.2	VM=32.0 DS= 2.5	t= 3.28	GL=45	p<0.005
80	VM=40.8 DS= 5.9	VM=37.9 DS= 5.1	t= 1.58	GL=35	NS
120	VM=39.1 DS= 5.6	VM=35.3 DS= 7.9	t= 1.87	GL=45	p<0.05

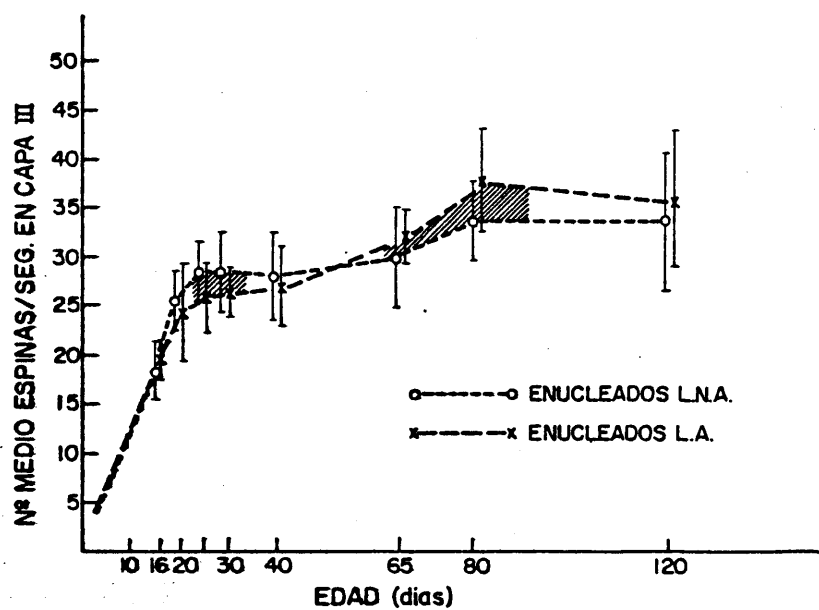
Figura 24 y Tabla IX.- Evolución del Número de Esp./seg. en capa III de ratas MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio contralateral) y comparación estadística respecto a las CONTROLES. En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.

- Una primera producción de espinas de menor intensidad que la encontrada en los controles, la cual representa aproximadamente un 65% del total de espinas dendríticas en el adulto. Este déficit de termina diferencias estadísticamente significativas entre el número de espinas por segmento de los enucleados LA y los controles a partir de los 25 días.
- El segundo periodo de crecimiento de espinas se desarrolla normalmente con una intensidad muy parecida a la de los animales controles. Sin embargo en este caso no hay recuperación tardía del número de espinas y a los 120 días todavía se detectan diferencias estadísticamente significativas, aunque con una probabilidad $p < 0.05$.

Las ideas que exponíamos en el apartado anterior, en las que hablabamos de una relación entre la primera oleada de desarrollo y la apertura de ojos del animal y por otra parte entre la segunda oleada y ciertos impulsos procedentes del otro hemisferio, parecen confirmarse con estos resultados. Efectivamente, en este caso es la primera oleada la que está afectada como era de esperar del hecho de que sea este hemisferio el afectado por la degeneración de la vía visual, tras la destrucción del ojo enucleado. Sin embargo, no hay efecto "interhemisférico" procedente del hemisferio sano con lo cual la segunda oleada se produce normalmente.

Evolución de la variable estudiada en el hemisferio afectado por la enucleación (LA) en relación con el hemisferio no directamente afectado (LNA). (Fig. 25 - Tabla X).

La comparación de ambos esquemas de desarrollo de espinas ilus



EDAD(días)	ENUCL L.N.A.	ENUCL L.A.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
16	VM=18.2 DS= 1.6	VM=19.2 DS= 2.6	t=1.25	GL=27	NS
20	VM=25.2 DS= 2.6	VM=24.1 DS= 4.7	t=0.83	GL=34	NS
25	VM=28.3 DS= 2.7	VM=25.2 DS= 3.3	t=2.68	GL=27	p<0.01
30	VM=28.3 DS= 4.5	VM=25.7 DS= 2.2	t=2.09	GL=33	p<0.025
40	VM=27.5 DS= 4.7	VM=26.3 DS= 3.9	t=0.88	GL=41	NS
65	VM=29.5 DS= 5.0	VM=32.0 DS= 2.5	t=2.05	GL=40	p<0.025
80	VM=33.7 DS= 3.9	VM=37.9 DS= 5.1	t=2.93	GL=37	p<0.005
120	VM=33.6 DS= 7.0	VM=35.3 DS= 7.9	t=0.70	GL=35	NS

Figura 25 y Tabla X.- Evolución del Número de Esp./seg. en la capa III de ratas MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio contralateral) y comparación estadística respecto al hemisferio ipsilateral. En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.

tra claramente los puntos mencionados anteriormente:

- La deficiencia sinaptogénica del primer periodo de desarrollo en el hemisferio LA, determina diferencias estadísticamente significativas con el hemisferio LNA. (25-30 días).

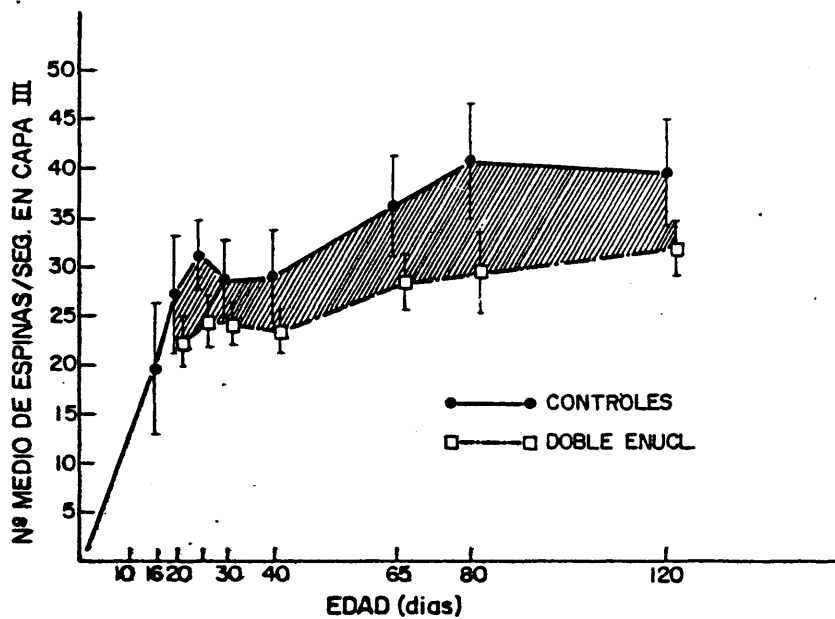
Estas diferencias se compensan a los 40 días, cuando comienza la segunda producción de espinas en el lado LA.

La ocurrencia normal de este segundo periodo de crecimiento de espinas en el hemisferio LA, y su escasa intensidad en el LNA hace que se inviertan los términos de la deficiencia apareciendo este último con un número de espinas significativamente menor a los 65 y 80 días. Después de esta edad, ambas deficiencias desaparecen y a los 120 días el número de espinas es comparable de un hemisferio a otro. Es decir, al final del periodo de desarrollo y después de la enucleación, la deficiencia en el número de espinas de la capa III es similar en ambos hemisferios.

3) Animales DOBLE ENUCLEADOS.

Evolución del número medio de espinas por segmento respecto a los Controles.

Como puede verse en la Fig. 26, Tabla XI, tanto la primera como la segunda producción de espinas son deficientes, con lo cual el número de espinas es muy inferior al correspondiente a los controles a lo largo de todo el periodo estudiado, siendo las diferencias altamente significativas.



EDAD(días)	CONTROLES	DOBLE ENUCL.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
20	VM=26.4 DS= 6.6	VM=22.1 DS= 2.2	t = 2.73	GL=35	p<0.01
25	VM=31.3 DS= 3.7	VM=24.8 DS= 2.1	t = 6.66	GL=37	p<0.005
30	VM=28.8 DS= 4.2	VM=24.4 DS= 1.4	t = 4.09	GL=37	p<0.005
40	VM=29.0 DS= 4.6	VM= 23.6 DS= 1.6	t = 4.61	GL=37	p<0.005
65	VM=36.0 DS= 5.2	VM= 28.3 DS= 2.5	t = 5.81	GL= 41	p<0.005
80	VM=40.8 DS= 5.9	VM= 29.8 DS= 4.2	t = 6.54	GL= 35	p<0.0005
120	VM=39.1 DS= 5.6	VM= 31.5 DS= 2.2	t = 4.57	GL= 41	p<0.0005

Figura 26 y Tabla XI.- Evolución del Número de Esp./seg. en la capa III de ratas BINOCULARMENTE ENUCLEADAS y comparación estadística respecto a las CONTROLES. En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.

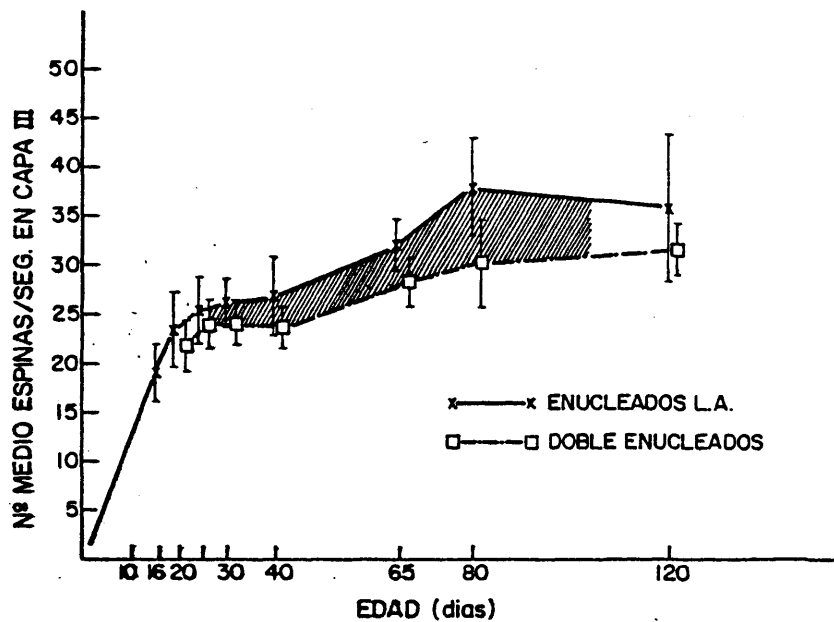
Evolución del Número Medio de Espinas por segmento respecto a enucleados (LA). Fig. 27. Tabla XII.

El primer periodo de desarrollo de espinas es bastante similar en ambos casos pero no hay una total coincidencia de los valores de espinas, ya que aparece diferencia estadísticamente significativa, aunque débil, a los 20 días.

Sí se ve claramente, que a partir de los 40 días, la diferencia va aumentando debido a que mientras en los enucleados LA se produce el segundo periodo de sinaptogénesis, en los Doble Eucleados este ocurre de una forma mucho menos intensa. No obstante, a los 120 días las diferencias han desaparecido con lo cual parece demostrarse que si bien el esquema de evolución es algo diferente el resultado final del desarrollo de espinas en la capa III es semejante en Doble Eucleados y Eucleados LA.

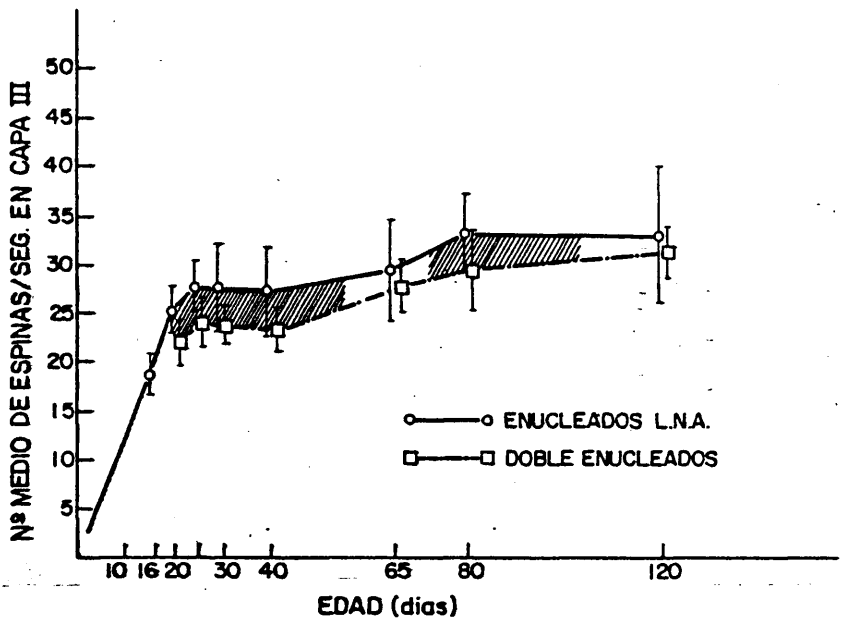
Evolución del Número Medio de Espinas por segmento respecto a enucleados (LNA).

Como indica la Fig. 28. Tabla XII, la mayor diferencia entre las variables en Doble Eucleados y Eucleados LNA se localiza durante los primeros 40 días de vida postnatal, como consecuencia de la deficiente primera producción de espinas en los Doble Eucleados. Posteriormente y debido a existir segunda producción de espinas de forma exigua en ambos casos, las diferencias se mantienen hasta los 80 días, si bien tendiendo a desaparecer, con lo cual a los 120 días no existen diferencias entre ambas condiciones. Aunque en Doble Eucleados son los dos periodos de crecimiento de espinas los



EDAD (días)	ENUCL. L.A.	DOBLE ENUCL.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
20	VM= 24.1 DS= 4.7	VM=22.1 DS= 2.2	t = 1.69	GL = 37	p < 0.050
25	VM=25.2 DS= 3.3	VM=24.8 DS= 2.1	t = 0.44	GL = 28	NS
30	VM=25.7 DS= 2.2	VM=24.4 DS= 1.4	t = 2.13	GL = 33	p < 0.025
40	VM=26.3 DS= 3.9	VM=23.6 DS= 1.6	t = 2.73	GL = 41	p < 0.01
65	VM=32.0 DS= 2.5	VM=28.3 DS= 2.5	t = 4.61	GL = 38	p < 0.005
80	VM=37.9 DS= 5.1	VM=29.8 DS= 4.2	t = 5.24	GL = 34	p < 0.005
120	VM= 35.3 DS= 7.9	VM=31.5 DS= 2.2	t = 1.67	GL = 28	NS

Figura 27 y Tabla XII.- Evolución del Número de Esp./seg. en la capa III de ratas BINOCULARMENTE ENUCLEADAS y con comparación estadística respecto a las MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio contralateral). En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.



EDAD (días)	ENUCL. L.N.A.	DOBLE ENUCL.	"t"	GRADOS DE LIBERTAD	P
20	VM=25.2 DS= 2.6	VM=22.1 DS= 2.2	t= 3.85	GL= 33	p<0.005
25	VM=28.3 DS= 2.7	VM=24.8 DS= 2.1	t= 4.32	GL= 35	p<0.005
30	VM=28.2 DS= 4.5	VM=24.4 DS= 1.4	t= 3.21	GL= 30	p<0.005
40	VM=27.5 DS= 4.7	VM=23.6 DS= 1.6	t= 3.21	GL= 32	p<0.0005
65	VM=29.5 DS= 5	VM=28.3 DS= 2.5	t= 0.93	GL= 36	NS
80	VM=33.7 DS= 3.9	VM= 29.8 DS= 4.2	t= 3.04	GL= 37	p<0.005
120	VM=33.6 DS= 7.0	VM= 31.5 DS= 2.2	t= 1.02	GL= 31	NS

Figura 28 y Tabla XIII.- Evolución del Número de Esp./seg. en la capa III de ratas BINOCULARMENTE ENUCLEADAS y comparación estadística respecto a las MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (hemisferio ipsilateral). En sombreado zona de diferencia estadísticamente significativa.

que se dan con menor intensidad de lo normal y en los Eucleados solo es el afectado el número de espinas se compensa en los primeros hasta equipararse con los segundos.

III). ESTUDIO DEL NUMERO MEDIO DE ESPINAS DENDRITICAS POR MICRA EN LAS RAMAS OBLICUAS DEL TALLO APICAL.

Los resultados del estudio de la evolución del Número de Espinas Dendríticas según las capas de la Corteza Visual considerados en el apartado anterior nos mostraban como la enucleación unilateral provoca una disminución de esta variable en los tallos apicales de las neuronas piramidales de la capa V, a nivel de la capa III del hemisferio cerebral ipsilateral al ojo extirpado. Este efecto que se hace patente a partir de los 40 días de vida del animal y, por lo tanto, afecta al que hemos llamado segundo periodo de desarrollo de espinas sinápticas se observó también en la capa III de animales Doble Eucleados, no teniendo lugar sin embargo en el hemisferio contralateral al ojo afectado de los animales unilateralmente enucleados. Para saber si se trata de un efecto de "cruce" interhemisférico realizado a través de fibras comisurales callosas realizamos un estudio adicional sugerido por un trabajo de GLOBUS y SCHEIBEL realizado en 1967.

GLOBUS y SCHEIBEL centraron su atención concretamente, en las terminaciones del Cuerpo Caloso sobre las neuronas piramidales de la capa V, utilizando como elemento de trabajo el contaje de espi-

nas dendríticas. En síntesis lo que estos autores hacían era seccionar quirúrgicamente el Cuerpo Calloso en un grupo de conejos recién nacidos los cuales eran sacrificados a los 30 días de edad. Después de realizar la histología de GOLGI a la parte correspondiente a la Corteza Parietal, hicieron contajes de espinas dendríticas en el Tallo Apical, Dendritas Basales y Ramas Oblicuas de la Dendrita Apical de las neuronas Piramidales. La pérdida de espinas estaba limitada a estas últimas partes de dichas neuronas y no se observan diferencias significativas en el Tallo Apical ni Dendritas Basales.

La conclusión a que llegaron GLOBUS y SCHEIBEL era que las fibras del Cuerpo Calloso harían sinapsis selectivamente sobre las Ramas oblicuas de los Tallos Apicales de las neuronas piramidales de la capa V.

Nuestro estudio se planteó en el sentido de ver si la Enucleación Unilateral producía sobre las ramas oblicuas de las neuronas piramidales de la Corteza Visual, tanto en el hemisferio ipsilateral como contralateral al ojo afectado, un descenso en el Número de Espinas por micra similar al observado por GLOBUS y SCHEIBEL en su experimento.

De acuerdo con ellos y sabiendo que las terminaciones callosas establecen sinapsis a nivel de estas ramas oblicuas se formuló como hipótesis previa que si se observa un descenso significativo en el hemisferio ipsilateral al ojo enucleado (L.N.A.) tal efecto degenerativo sería transmitido a través del Cuerpo Calloso y procedería del hemisferio contrapuesto, directamente afectado por la dege

neración transneuronal de la vía óptica.

Empleando una metodología similar a la de GLOBUS y SCHEIBEL, expuesta en el capítulo correspondiente, se realizaron contajes a los 30 días, edad estudiada por estos autores, y a los 80 días, edad en la cual el cruce de los efectos de la enucleación observado por nosotros sobre el tallo apical es más neto, obteniéndose los resultados siguientes que se resumen en la tabla XIV.

Edad	LA	LNA	"t"	GL	P
30 días	$\bar{x} = 0.71$ $s = 0.08$	$\bar{x} = 0.69$ $s = 0.07$	0.92	48	N.S.
80 días	$\bar{x} = 0.79$ $s = 0.10$	$\bar{x} = 0.73$ $s = 0.13$	1.76	48	$p < 0.05$
p del test de "t"	$t = 1.93$ $p < 0.05$	$t = 1.41$ N.S.			

Tabla XIV.- Número de Espinas/Micra en los hemisferios contralateral (LA) e ipsilateral (LNA) al ojo afectado por la enucleación. Resultado de la estadística realizado mediante el test "t" de STUDENT.

A los 30 días no existe diferencia estadísticamente significativa entre los hemisferios contralateral e ipsilateral al ojo enucleado en lo que respecta al Número Medio de Espinas por Micra de las Dendritas Oblicuas del Tallo Apical de ratas unilateralmente enucleadas.

A los 80 días hay una diferencia no muy marcada (significativa con $p < 0.05$) entre ambos hemisferios, quedando el ipsilateral con un valor menor de la variable que el correspondiente al contralateral (lado directamente afectado por enucleación).

Comparando los valores medios correspondientes a los 80 y 30 días se observa que en el hemisferio contralateral al ojo enucleado ha habido un aumento significativo de las espinas de las Ramas Oblicuas en el intervalo de tiempo considerado pasando de 0.71 ± 0.08 a 0.79 ± 0.10 mientras que en el hemisferio opuesto no existe tal aumento ya que los valores pasan de 0.69 ± 0.07 a 0.73 ± 0.13 , diferencia que no es estadísticamente significativa. Según los resultados anteriormente expuesto se podría concluir que sí hay motivos para pensar que el efecto de disminución del Número de Espinas por micra visto en las Ramas Oblicuas de las neuronas piramidales del hemisferio NAS a los 80 días se produce por un efecto degenerativo de fibras procedente del hemisferio AS a través del Cuerpo Calloso. Del mismo modo la concordancia cronológica de este efecto con el observado en el Número de Espinas por segmento del Tallo Apical a nivel de la capa III en el mismo hemisferio ipsilateral al ojo enucleado que se hacía patente a partir del día 40 de desarrollo da pie a pensar en una causa común determinante de ambos fenómenos pudiendo hablarse por lo tanto con propiedad de un efecto de "cruce" o interhemisférico del hemisferio directamente afectado por la enucleación sobre su contrapuesto.

Tales conclusiones, no obstante serán objeto de un más amplio comentario en el capítulo de Discusión.

IV). RESULTADOS OBTENIDOS EN RELACION CON EL MODELO MATEMATICO DE DISTRIBUCION DE ESPINAS DESCRITO POR RUIZ MARCOS Y VAL-VERDE (1969).

Estos resultados han sido agrupados para su posterior discusión en dos apartados:

- A) Los referentes al grado de ajuste de las distribuciones experimentales de espinas a la Ecuación Fundamental del Modelo.
- B) La evolución de los parámetros B, IF y K del M.M. (Modelo Matemático) a lo largo del desarrollo y evolución del Cociente o Razón B/IF.

A). AJUSTE TEORICO EXPERIMENTAL.

El Modelo Matemático fue establecido primeramente para el ratón, comprobándose posteriormente que también se cumplía en el hamster, gato, mono y en el hombre. De esta manera se establecía una especie de plan estructural básico de acuerdo con el cual las espinas dendríticas se distribuyen a lo largo de los Tallos Apicales de las Neuronas Piramidales de la capa V. El hecho de que animales de tan diferente situación filogenética coincidieran en esta ley de distribución daba pie para pensar que su cumplimiento es generalizado entre los Mamíferos.

De todos modos nuestro estudio sobre la Eucleación iba a realizarse en ratas de laboratorio y era necesario primeramente comprobar si la distribución de espinas coincidía con la distribución

teórica predicha por la Ecuación Fundamental del Modelo Matemático a lo largo del periodo de tiempo estudiado.

Una vez confirmado este hecho se estudiarían los efectos que sobre esta distribución podría determinar la degeneración de la vía óptica inducida por la enucleación unilateral o bilateral. Como muestra la fig. 29 los animales control cumplen la ecuación fundamental del M.M. en todas las edades estudiadas, es decir que las distribuciones experimentales encontradas se han ajustado en cada caso con la distribución teórica predicha por la Ecuación Fundamental del Modelo, de acuerdo con unos valores de P variables, pero siempre inferiores a 0.05. La bondad del ajuste es mayor en el periodo comprendido entre los 16-30 días y es menor a los 80. Como ejemplo de ajuste teórico experimental en ratas control incluimos el correspondiente a los 16 días (Fig. 8).

Los animales enucleados unilateralmente no presentan desajustes en cuanto al M.M. a ninguna edad (ver Fig. 29) ni en el hemisferio directamente afectado ni en el no directamente afectado por la enucleación. En el primero (LA), el ajuste es máximo en el intervalo de 16-25 días con $p < 0.005$ al igual que los controles. En el hemisferio LNA se presentan los mejores ajustes siendo de $p < 0.005$ en todas las edades estudiadas. Por ejemplo a los 80 días. (Fig. 30).

Por lo tanto la ley de distribución de espinas a lo largo del tallo apical puede describirse por la Ecuación Fundamental del Modelo Matemático, a lo largo de todo el desarrollo, tanto en las ramas control como en los hemisferios LA y LNA de los animales unila

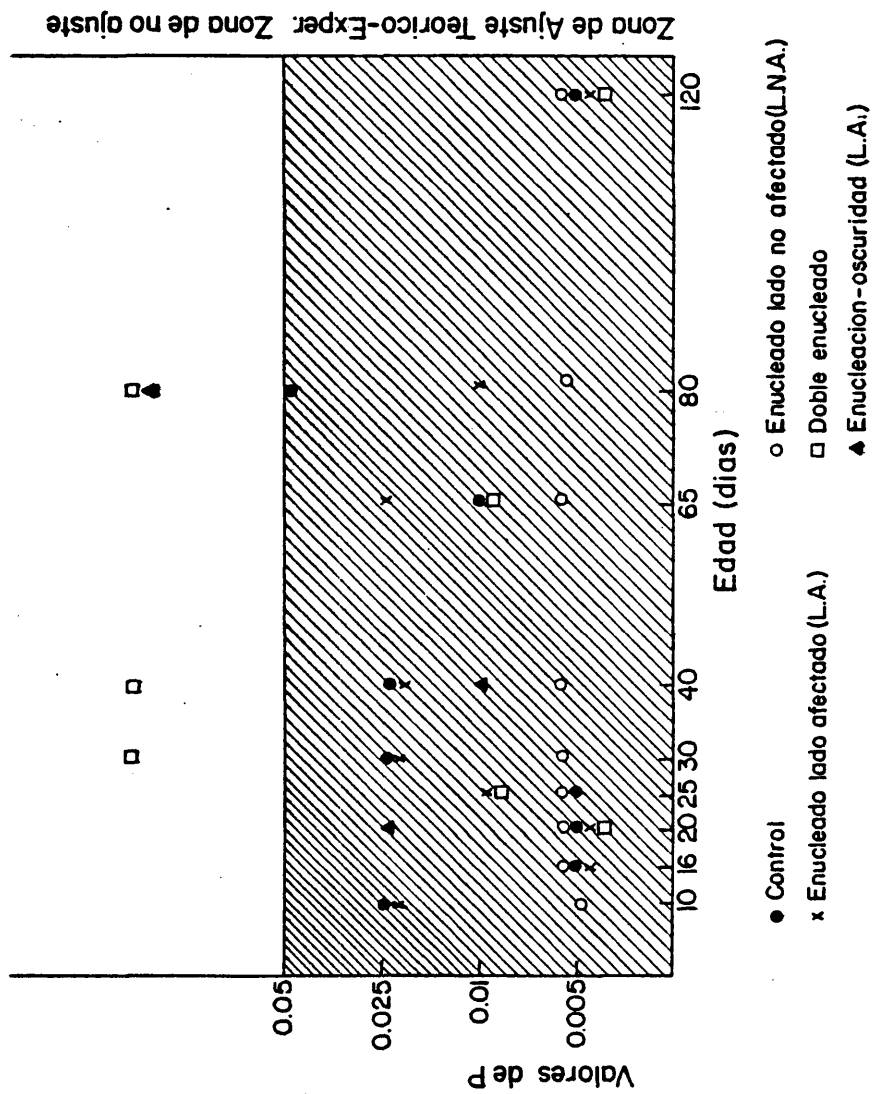


Figura 29.- Valores de χ^2 de los ajustes al Modelo Matemático de los datos CONTROL Y EXPERIMENTALES.

CONTENT ALONG APICAL DENDRITES AND THE DISTANCE FROM CELL BODY IN THE PYRAMIDAL CELLS OF AREA STRIATA OF THE RAT.
 DPT. BIOFISICA C.I.B. C.S.I.C. RUIZ-MARCOS SANCHEZ-TOSCAND.

RATS NUM. 185 186 189 190 87 91 92
 TOTAL DENDRITES 21
 CONDITION ENUCLEATED NAS AGE 80DAYS YM 700.00 B -0.00083 K 1.01389 IF 0.00375

CHI VALUE 0.523 DEGREES OF FREEDOM 13 P BEYOND THE 99.5% LEVEL
 *****-YET-THEORETICAL VALUES *****-YE-EXPERIMENTAL VALUES

YE	FLYE	YET	X.	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
I														
I														
I	4.32	1.16	4	25I	*									
I														
I	25.29	1.46	24	75I	*									
I														
I	38.81	1.31	37	125I	*									
I														
I	46.29	1.83	44	175I	*									
I														
I	49.95	1.82	47	225I	*									
I														
I	48.24	1.80	48	275I	*									
I														
I	45.71	1.74	46	325I	*									
I														
I	42.62	1.72	43	375I	*									
I														
I	39.38	1.57	40	425I	*									
I														
I	36.47	1.44	37	475I	*									
I														
I	33.53	1.54	33	525I	*									
I														
I	30.25	1.84	29	575I	*									
I														
I	25.92	1.74	26	625I	*									
I														
I	23.60	3.11	23	675I	*									
I														

Figura 30.- Ajuste teórico-experimental de la distribución de Espinas Dendriticas de un grupo de animales de 80 días MONOCULARMENTE ENUCLEADOS (L.N.A.). Programa ESPINAS.

teralmente enucleados.

Las consecuencias de la Doble Eucleación sobre la distribución de espinas en las neuronas piramidales son más profundas y no siguen aparentemente una norma clara.

Se producen ajustes a los 20, 25, 65 y 120 días. No hay ajuste teórico-experimental a los 30, 40 y 80 días (ver p.e. Fig. 9). La bondad del ajuste en este caso es bastante variable; $p < 0.005$ a los 20 días, $p < 0.01$ a los 25 y 65 días y $p < 0.005$ a los 120 días. En las edades en las que no hay tal ajuste, las distribuciones no se separan mucho de las correspondientes teóricas descritas por el M.M. y el nivel de confianza ha sido en todos los casos de más del 90% (Fig. 29).

Estos resultados muestran que la distribución de espinas en animales Doble Eucleados oscila, a lo largo del desarrollo, en torno al ajuste al M.M. siendo este más inestable que en las otras condiciones experimentales, lo cual refleja una alteración más profunda en lo que a la disposición de las sinapsis se refiere.

B). EVOLUCION DE LOS PARAMETROS B, IF Y K DEL MODELO MATEMATICO A LO LARGO DEL DESARROLLO. EVOLUCION DEL COCIENTE O RAZON B/IF.

La ecuación exponencial $Y_s = Y_m (1 - k.e^{-B.X}) . e^{-IF.X}$ (Ecuación Fundamental del Modelo Matemático) la cual expresa la dependencia entre el número medio de espinas en un determinado segmento del Tallo Apical (Y_s) y la distancia del mismo al soma celular (x), contiene tres parámetros que tomarán valores diferentes para una

determinada edad y condición del animal de que se trate. Estos parámetros B, IF y K nos servirán para medir en cierta manera y dentro de las condiciones impuestas por el M.M. el estado de desarrollo de la Corteza Cerebral así como las modificaciones sufridas como consecuencia de las situaciones experimentales que nos proponemos estudiar.

Según los autores del Modelo Matemático, el coeficiente B o factor potenciador es responsable del incremento de la variable Y_s , mientras que el IF o Factor Inhibidor induce una disminución de la misma.

Los valores de B e IF aumentan a medida que el animal envejece, habiendo encontrado estos autores que este aumento tiende a hacerse ordenadamente y de acuerdo con una norma que puede expresarse, en el caso del ratón, en ecuaciones potenciales que venían a completar el Modelo Matemático (RUIZ MARCOS y VALVERDE, 1969). Nosotros, dentro de este estudio, hemos observado también un desarrollo ordenado de los coeficientes B e IF respecto del tiempo, con lo cual hemos querido ver una cierta relación y dependencia entre ambas lo que nos indujo a estudiar el Cociente o Razón B/IF, es decir la proporción entre ambos factores Potenciador e Inhibidor.

El estudio de este Cociente B/IF se ha revelado armónico y coherente, dando un tipo de evolución en el desarrollo totalmente paralelo a la curva de desarrollo del número de espinas dendríticas en el Tallo Apical. Es posible, por lo tanto, que este valor tenga un significado biológico más claro que el de los coeficientes aislados.

El parámetro K es un coeficiente de proporcionalidad, necesario para el ajuste de la Ecuación y que se relaciona con el punto a partir del cual comienzan a aparecer las espinas dendríticas a lo largo del Tallo Apical. El estudio del mismo, como veremos, es menos claro e informativo que el de B e IF, ya que se producen permanentes oscilaciones en el desarrollo cuyo significado permanece incierto.

Parámetro B. Factor Potenciador. Fig. 31.

En la condición Control se aprecia una fuerte subida del nivel de B en los 25 primeros días de desarrollo, la cual coincide con el primer periodo de crecimiento de espinas. Posteriormente el nivel de Potenciador varia poco y el aumento es muy pequeño, lo cual parece sugerir que la segunda producción de espinas no va acompañada de un aumento en el valor de este parámetro. Hay incluso una débil bajada entre los 65 y 80 días que se corresponde con el periodo de mayor aumento de espinas durante dicha segunda fase de desarrollo.

El tipo de curva encontrado es muy semejante al previamente descrito por RUIZ MARCOS y VALVERDE en 1969 al referirse al desarrollo del coeficiente B en función de la edad, en el ratón.

En animales enucleados LNA los valores de B son semejantes a los de los Controles durante los 20 primeros días de desarrollo, produciéndose seguidamente un aumento en este parámetro, el cual se hace particularmente notable a los 65 días.

En el hemisferio LA, de animales enucleados la evolución del parámetro B presenta las siguientes características:

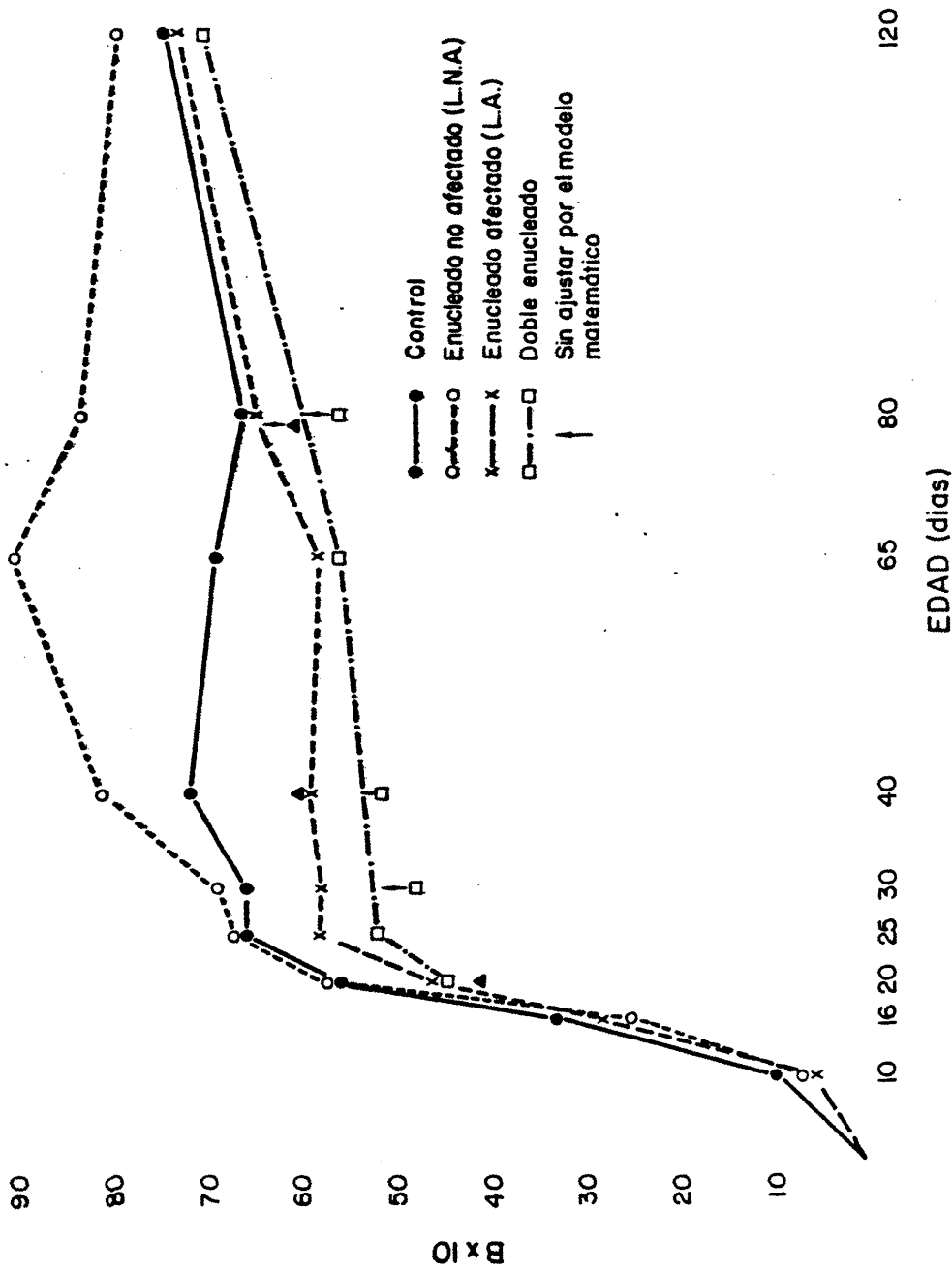


Figura 31.- Evolución con el tiempo del Parámetro B del Modelo Matemático.

- La intensidad del desarrollo en la primera etapa postnatal es menor que en controles, con lo cual a partir de los 20 días se produce una fuerte disminución de los niveles de Potenciador, los cuales permanecen por debajo de los normales hasta los 80 días. Estos resultados concuerdan con la deficiencia que sufre este hemisferio en la primera producción de espinas como consecuencia de la degeneración producida por la enucleación unilateral y la cual afecta principalmente a la capa IV.

- Una recuperación tardía (entre los 65 y 80 días) de los niveles de parámetro B, el cual toma valores semejantes a los de los controles.

Del mismo modo la curva de desarrollo de B en Doble Eucleados está de acuerdo con todo lo que llevamos dicho ya que presenta un aumento durante los 25 primeros días postnatales del animal de intensidad menor que tras la enucleación unilateral (LA), y una recuperación tardía hacia los 80 días que no es tan clara debido a la falta de ajuste de la distribución de espinas al M.M. a esta edad, lo cual hace que los valores correspondientes de los parámetros no sean fiables.

Resumiendo estos resultados podemos decir que entre los valores de B correspondientes a los hemisferios afectado y no directamente afectado por la enucleación hay una separación bastante profunda quedando los valores en el LA y en los Doble Eucleados muy por debajo de los correspondientes al LNA. Esta separación se hace patente a los 20 días, aumenta progresivamente alcanzado su máximo entre los 40-65 días y tiende a compararse posteriormente.

Todo esto sugería que la base de la diferencia estaba relacionada con el proceso de apertura de ojos del animal y nos preguntamos si la presencia de la luz sería necesaria para que se produjeran las diferencias anteriormente expuestas; es decir, se trataba de ver que parte del efecto observado sobre el lado afectado correspondía a la degeneración transneuronal de las aferencias específicas y qué parte podría deberse al factor luz ambiental.

Para ello se diseñó el experimento siguiente destinado a estudiar la interrelación Enucleación-Oscuridad:

Se estudió la evolución del factor potenciador B en el hemisferio LA de animales enucleados criados en completa oscuridad desde su nacimiento según la metodología expuesta en el capítulo correspondiente. Las edades elegidas en el desarrollo fueron los 20, 40 y 80 días, las cuales cubrían los periodos más interesantes para detectar posibles diferencias inducidas por la falta total de luz.

Según muestra la Fig. 32, la comparación de los valores del parámetro B entre los hemisferios afectados (LA) de animales enucleados criados en la luz o en oscuridad no muestran ningún cambio significativo teniéndose a las edades mencionadas una total correspondencia entre las dos series de datos.

Por lo tanto el resultado parece indicar que la luz no es el determinante en ningún grado de las diferencias registradas en los valores de B en el hemisferio afectado directamente por la enucleación unilateral, debiéndose estas a la degeneración producida por dicha operación.

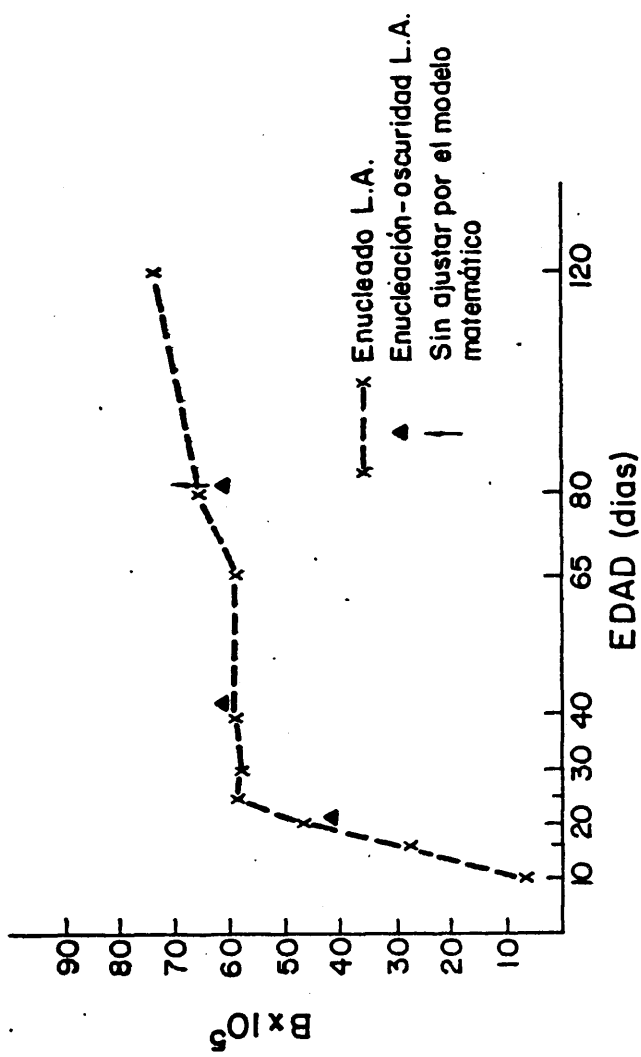


Figura 32.- Evolución del Parámetro B del Modelo Matemático en animales MONOCULARMENTE ENUCLEADOS (LA) en situaciones de luz y oscuridad.

Parámetro IF. Factor Inhibidor. Fig. 33.

La evolución de los Controles es semejante a la del Factor Potenciador pero con caracteres más marcados.

Aparece, por lo tanto, un aumento muy pronunciado durante las primeras etapas del desarrollo que se prolonga hasta los 40 días, después de los cuales sigue un descenso bastante fuerte que alcanza su punto más acusado a los 80 días. Después y hasta los 120 días se sigue un ligero aumento de los niveles del coeficiente IF. Aquí también parece que el primer periodo de desarrollo de espinas coincide con el mayor aumento de Factor Inhibidor y que la segunda producción aparece aquí más neta que en el caso del factor B, el cual se mostraba más indiferente.

En animales unilateralmente enucleados la evolución del parámetro IF es bastante semejante a la de controles apareciendo las siguientes diferencias:

- La intensidad de aumento de inhibidor de los primeros 40 días de vida postnatal es diferente en los dos hemisferios siendo en el LNA superior a la de los controles e inferior a estos en el LA. Este fenómeno es exactamente igual a lo que ocurre con el Factor Potenciador.
- El descenso de los niveles de IF, que se sitúa entre los 40-80 días de edad, ocurre en los dos hemisferios de manera muy parecida y paralela a la de los controles. En los tres casos existe segunda oleada de desarrollo de espinas y puede, por lo tanto, establecerse la relación anteriormente citada entre ella y esta caída en los niveles de IF.

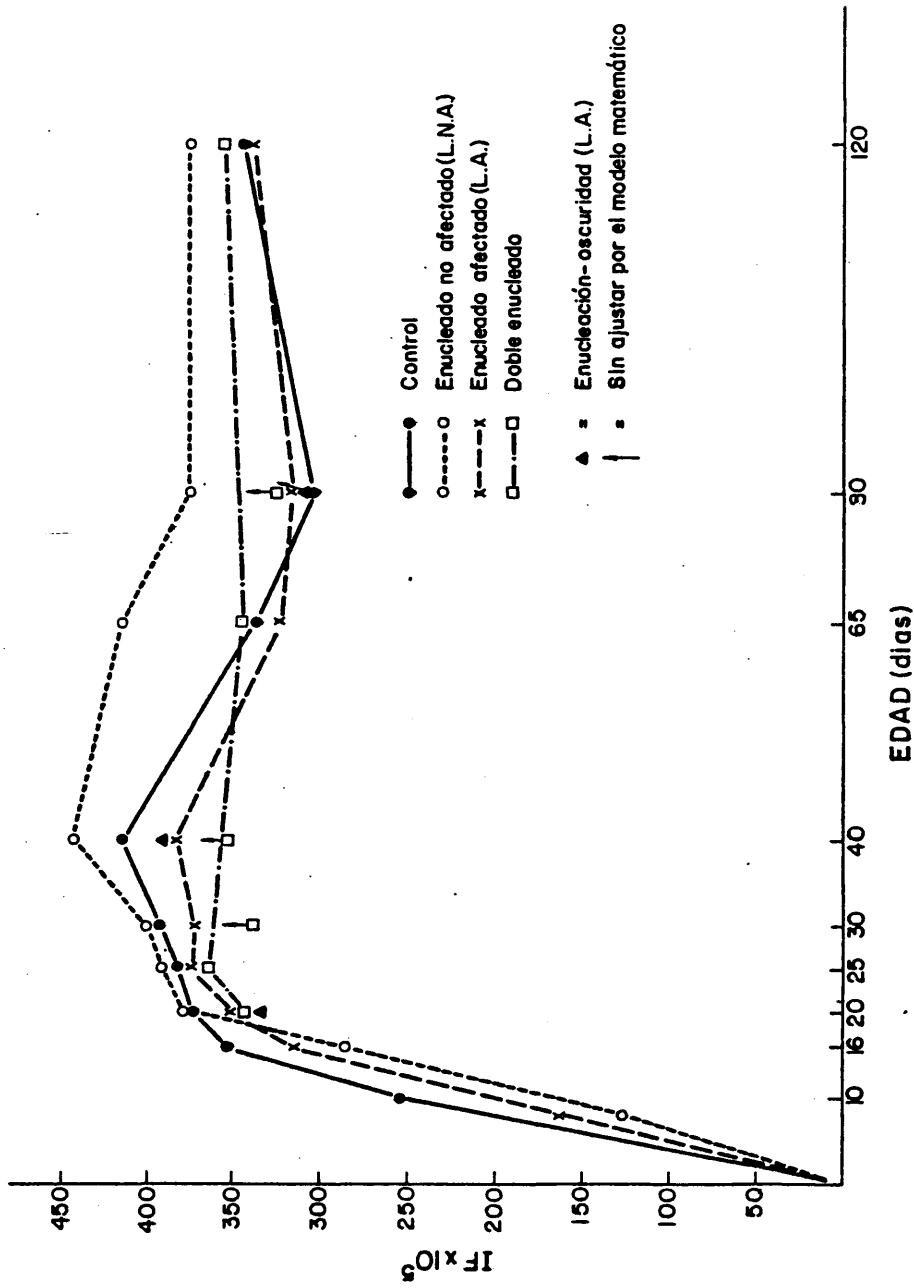


Figura 33.- Evolución, con el tiempo del Parámetro IF del Modelo Matemático.

- Después de los 80 días, el nivel de Inhibidor se mantiene constante e invariable tanto en los controles como en los hemisferios LA y LNA de animales enucleados.

Hay que hacer notar aquí la ausencia de recuperación tardía que habíamos encontrado en este periodo de tiempo en los valores de Factor Potenciador del hemisferio LA.

La evolución de los niveles de IF en Doble Eucleados confirma alguna de las ideas anteriormente expuestas:

En primer lugar hay un crecimiento menor durante las primeras etapas de desarrollo como corresponde a una menor intensidad de producción de espinas dendríticas en esta condición; en segundo lugar no aparece neta la disminución tardía de IF como cabía esperarse de la no existencia de la segunda oleada de desarrollo de espinas.

Los resultados del experimento Enucleación-Oscuridad en cuanto a IF confirmaron los obtenidos al B. Fig. 34.

La diferencia obtenida en los valores del parámetro en el hemisferio afectado directamente por la enucleación no están determinadas por la presencia o ausencia de luz como se deduce del hecho de que no aparezcan diferencias en los niveles de IF en el hemisferio mencionado de ratas enucleadas criadas en luz y en oscuridad.

Cociente B/IF. Razón Potenciador/Inhibidor. Fig. 35.

Ya nos hemos referido antes al motivo por el cual se estudió este cociente basado en la observación de un paralelismo entre los

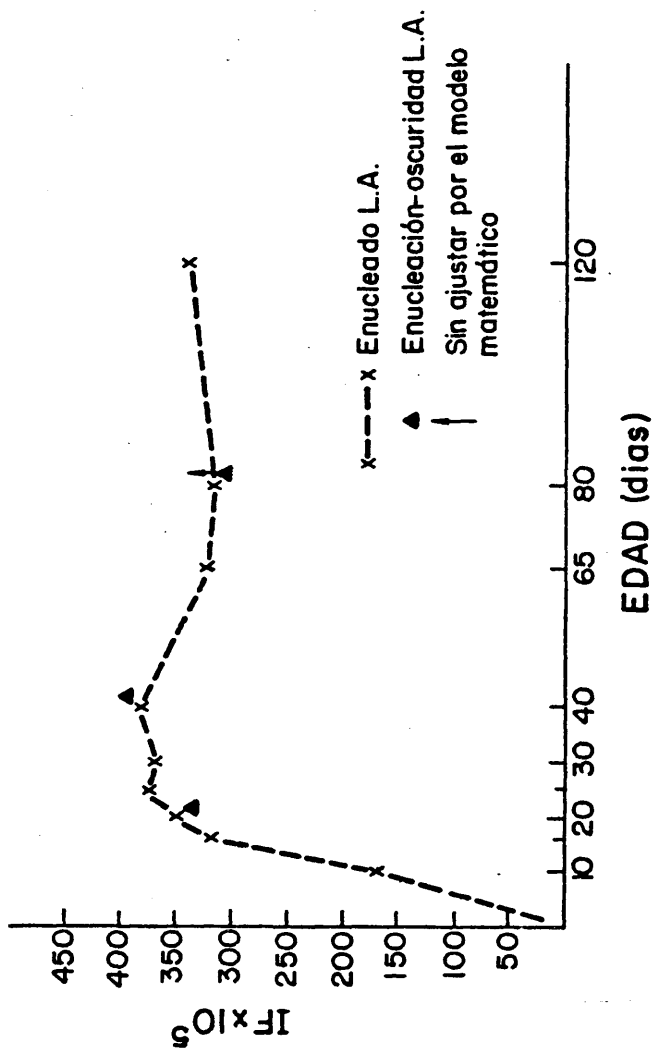


Figura 34.- Evolución del Parámetro IF del Modelo Matemático en animales MONOCULARMENTE ENUCLEADOS (L.A.) en situaciones de luz y oscuridad.

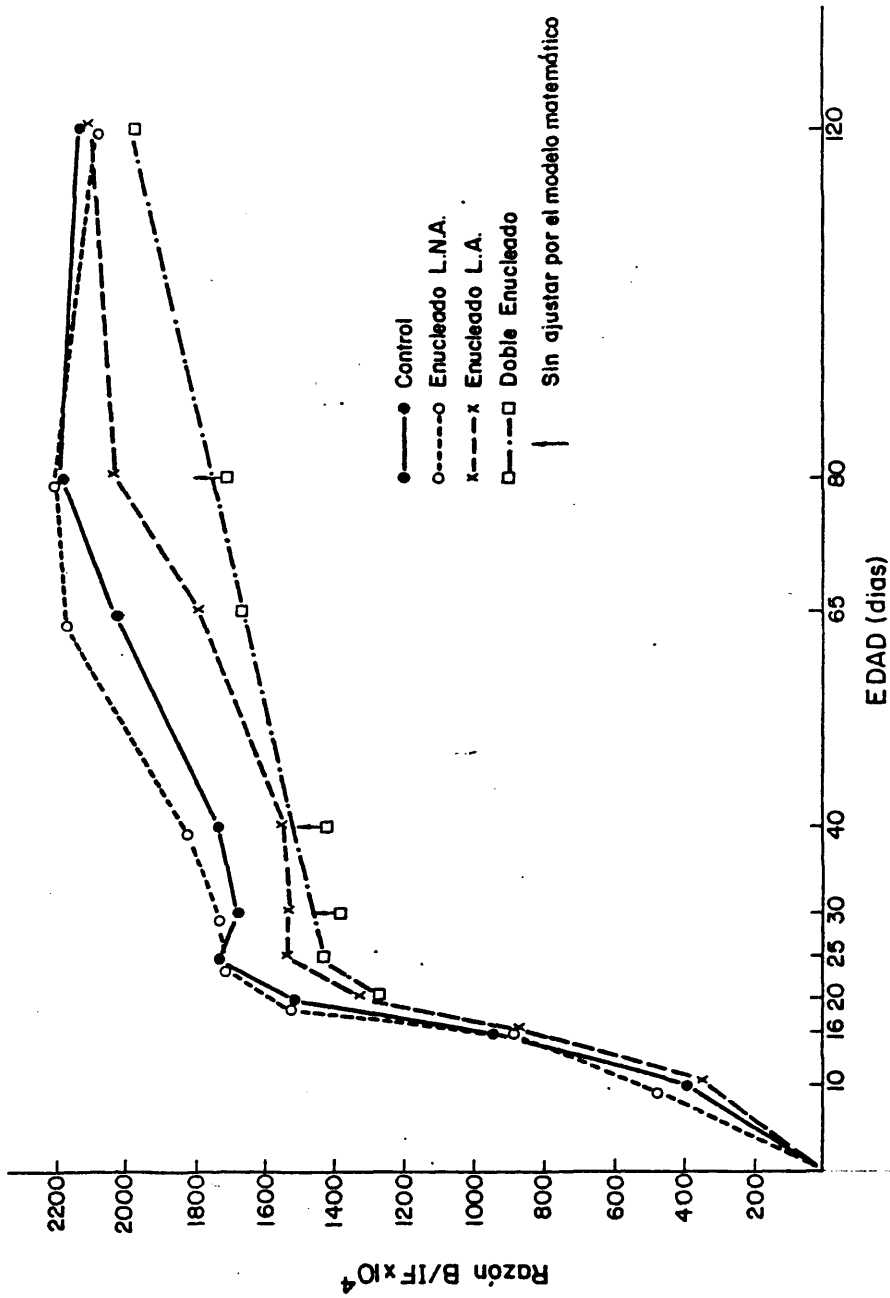


Figura 35.- Evolución, con el tiempo, del cociente B/IF.

crecimientos de B y de IF en el tiempo. Era importante, por lo tanto, saber la proporción que ambos mantenían a lo largo del desarrollo estudiado.

Los resultados obtenidos han sido coherentes y pueden resumirse de la forma siguiente:

En animales Controles la evolución de la Razón B/IF es ascendente presentándose dos periodos claros de aumento separados por un intervalo de estabilización. El primero de los periodos de crecimiento, que es el más importante, comprende los 25 primeros días de vida postnatal y va seguido de un equilibrio o incluso un pequeño descenso que dura hasta el día 40 de edad. Posteriormente tenemos el segundo periodo de aumento del parámetro considerado, entre los días 40-80, edad a la cual parece alcanzarse un nuevo y definitivo estado de equilibrio que hace que no se detecten cambios a los 120 días.

Como ya indicamos más arriba el esquema de evolución de B/IF es totalmente coincidente con el de la variable Número de Espinas por Neurona a lo largo del Tallo Apical completo, como podemos ver observando de nuevo la Fig. 12.

Existe una correspondencia clara entre los elementos integrantes de ambas curvas:

0-25 días:

Primer periodo de aumento B/IF — Primer periodo de crecimiento de espinas.

25-40 días:

Estabilización-Descenso de B/IF — Estabilización y descenso transitorio (efecto rebote) del N^a de espinas/Neurona en el Tallo Apical completo.

40-80 días:

Segundo periodo de aumento de B/IF — Segundo periodo de crecimiento de Espinas.

80-120 días:

Estabilización de B/IF — Estabilización (ligero descenso) del N° de Espinas.

Parece, por lo tanto, existir una relación entre ambos factores que sugeriría que los procesos de desarrollo sinaptogénico vendrían determinados por periodos de aumento de la proporción Potenciador/Inhibidor o viceversa.

Los resultados referentes a la evolución de B/IF en animales Enucleados confirman plenamente los resultados anteriores.

En el hemisferio LA se observa una disminución de la Razón B/IF más acusada a partir de los 20 días y que es finalmente compensada (Fig. 35). La curva de evolución del Número de Espinas por Neurona es básicamente la misma (Fig. 13) apareciendo los mismos elementos de crecimiento con intensidades parecidas.

Por lo tanto, y como consecuencia de la enucleación, se produce un descenso en la Razón Potenciador/Inhibidor en el hemisferio directamente afectado por la misma que perdurará hasta una cierta edad de 80 días después de la cual se recuperan valores similares a los de los Controles. Esta recuperación vista en la proporción B/IF se refleja de forma característica en un aumento del Número de Espinas por segmento de la capa IV (Fig. 18) que alcanza en este estadio de desarrollo valores normales.

En el hemisferio LNA la razón B/IF es idéntica a la de los

controles durante los veinte primeros días postnatales siendo posteriormente algo mayor hasta los 80 días (Fig. 35). No obstante y tal como vimos en su momento estas ligeras diferencias no dan lugar a diferencias estadísticamente significativas en cuanto al número de espinas por neurona.

En Doble Enucleados se confirma lo dicho anteriormente y tanto la forma de la curva como los valores con relación a los Controles y Enucleados unilateralmente son parecidos a los que muestran las curvas de Número de Espinas por Neurona (Comparar las figuras 35 con las 14 y 15).

Cuando antes nos hemos referido al experimento Enucleación-Oscuridad dijimos que no se observaban cambios de los valores de B e IF entre los hemisferios AS de animales enucleados criados en luz y enucleados criados en ausencia de luz por lo que es lógico que tampoco exista influencia de este factor en lo relativo al Cociente B/IF a las tres edades estudiadas (Fig. 36).

En resumen el Cociente Potenciador/inhibidor evoluciona durante el periodo estudiado de modo semejante al desarrollo sinaptogénico ligado a las espinas dendríticas en la Corteza Cerebral. La correspondencia entre ambos factores parece indicar una relación causa-efecto mutua.

Por otra parte hay que hacer notar la identidad entre las curvas de desarrollo del Cociente B/IF en las condiciones experimentales estudiadas ya que en todas ellas pueden verse los mismos elementos con diferencias en lo que respecta a la intensidad de los mismos.

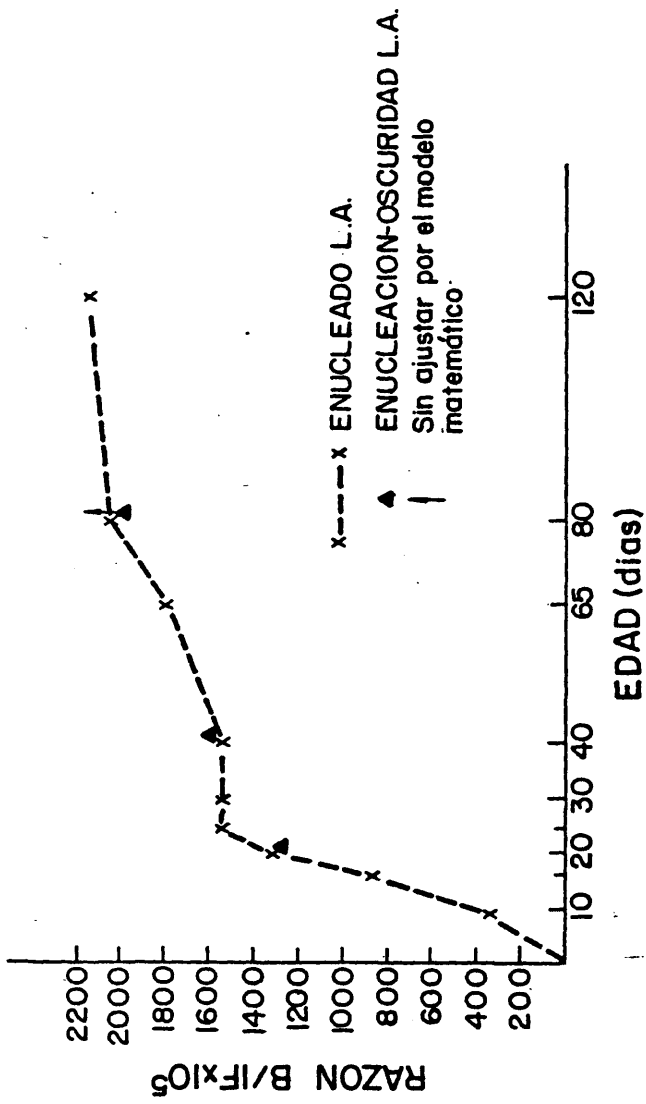


Figura 36.- Evolución del cociente B/IF en animales MONOCULARMENTE ENUCLEADOS (LA) en situaciones de luz y oscuridad.

Parámetro K. Fig. 37.

Las curvas de crecimiento del coeficiente K en función del tiempo presentan un curso bastante irregular lo que hace difícil relacionarlas con fenómenos biológicos concretos. Por otra parte ya hemos visto, que K es un parámetro de ajuste de la Ecuación Fundamental del Modelo Matemático de cálculo complejo y que no tiene un claro sentido biológico si no es considerándolo de modo conjunto con B. No obstante, todas estas dificultades, podemos establecer como ciertos los siguientes hechos relativos al desarrollo de K:

- La tendencia de K en función del tiempo es a aumentar. El periodo comprendido entre los 0-25 días es el de máxima pendiente, con lo cual se establece una relación entre él y el primer periodo de desarrollo de espinas como ya hemos visto en otras ocasiones.

- Los valores de K en el hemisferio LNA son mayores que los del hemisferio LA en animales unilateralmente enucleados. En controles se adoptan valores intermedios excepto a los 80 días en que aparece una bajada bastante marcada de K.

Por lo tanto puede hablarse de una depresión en el lado directamente afectado por la enucleación que se refleja en una disminución de los valores de los parámetros, B, IF y K y de un "sobreesfuerzo" en el hemisferio contrapuesto con valores de tales parámetros por encima de los normales.

En Doble Enucleación la K se mantiene más pequeña lo cual es acorde también con lo visto para el Potenciador e Inhibidor.

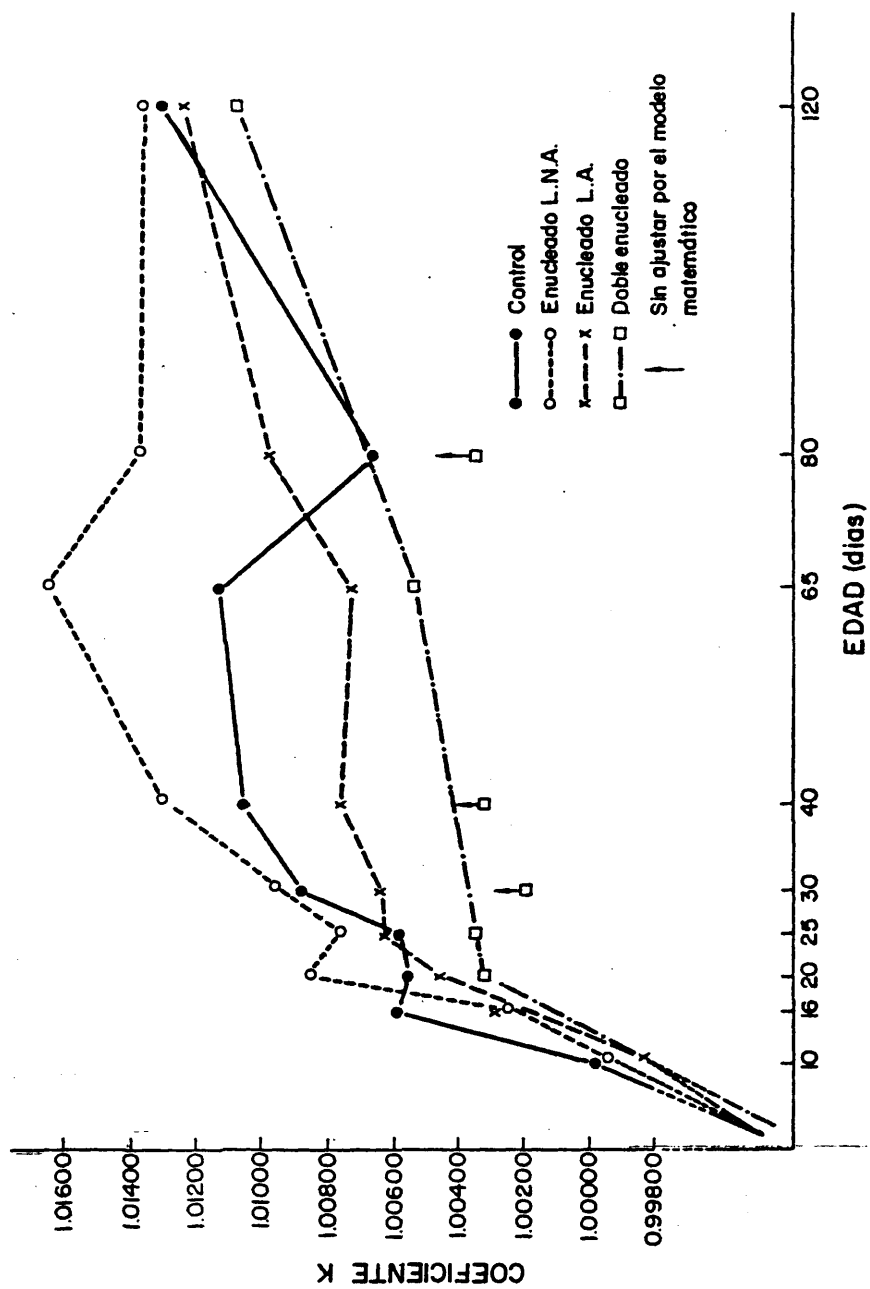


Figura 37.- Evolución, con el tiempo, del Parámetro K del Modelo Matemático.

DISCUSSION

DISCUSION

I. CONSIDERACIONES METODOLOGICAS.

Antes de pasar a la Discusión de nuestros resultados en relación con los anteriormente obtenidos en este campo conviene hacer una serie de consideraciones sobre las precauciones que hay que tomar a la hora de intentar la integración de todos ellos. El gran número de incongruencias que aparece en la numerosa literatura consultada, con resultados muchas veces contradictorios, puede deberse a que ciertas variables fundamentales en estos estudios de deprivación visual no son suficientemente comparables. Así por ejemplo, la edad y la tasa de desarrollo varían de forma importante la severidad de los efectos de una situación de deprivación ambiental sobre el desarrollo de las estructuras nerviosas. Igualmente la duración de tal deprivación y la especie animal estudiada. En este sentido hay que tener en cuenta que aún en especies animales filogenéticamente próximas y de mecanismos de visión semejantes la respuesta frente a la deprivación visual puede tener una intensidad bastante diferente. Por último los efectos de una determinada situación experimental pueden variar mucho de una estructura a otra dentro del Sistema Visual.

Todo ello refleja una cierta dificultad a la hora de valorar nuestros resultados frente a los restantes, obtenidos en diferentes situaciones experimentales. Cuatro son los métodos de deprivación visual más comúnmente usados los cuales ordenados en sentido creciente según su efecto sobre la corteza visual serían: sección del trac

to, sutura de párpados, oscuridad y enucleación (GAREY, 1973). No obstante muchos aspectos sobre la diferente actuación de los mismos son aún desconocidos.

Una dificultad especial reviste la coordinación de los resultados histológicos con los fisiológicos y los comportamentales con lo cual sólo nos referiremos a estos últimos cuando se trate de aspectos suficientemente claros.

Otra cuestión a considerar son las limitaciones que plantea el uso del método de GOLGI. Estas fueron ya observadas por sus descubridores, por ejemplo COX (1891) y RAMON y CAJAL (1911) y puestas de manifiesto en cuanto a sus aspectos cuantitativos por SHOLL (1955) el cual marca las directrices para subsanarlas. Estos problemas pueden resumirse en dos puntos:

- solo un pequeño tanto por ciento de las neuronas (aproximadamente del 1-5%) son visualizadas mediante tinción con este método dependiendo de unas características desconocidas. Además el grado de visualización difiere de un corte al siguiente.
- la calidad de las tinciones varía mucho de un animal a otro y de unas estructuras a otras.

Estos hechos plantean dificultades metodológicas que pueden ser subsanadas mediante la utilización de muestras estadísticas grandes de parámetros suficientemente fiables. Las espinas dendríticas tal como demostraron GLOBUS y SCHEIBEL (1966) se comportan como índices fieles de conectividad sináptica en las neuronas piramidales y frente a la posibilidad de que sus contajes pudieran ser adulterados por artefactos de tinción hay que decir que en todos los nume-

rosos contajes realizados por nosotros siempre nos hemos encontrado una gran coherencia de resultados y con variabilidad muy pequeña de los mismos. Además las comparaciones de los contajes de espinas con el método de GOLGI frente a otros métodos no han mostrado diferencias significativas. Por ejemplo, con azul de metileno de Ehrlich (RAMON y CAJAL, 1911) y con microscopio electrónico (BLACKSTAD, 1965). El método recientemente desarrollado por FAIREN y col. (1977) que permite el estudio conjunto de una determinada estructura mediante el método de GOLGI y el microscopio electrónico ha proporcionado nueva evidencia de la fiabilidad de este tipo de estudios.

Quede claro, por tanto, que con ciertas precauciones derivadas de los problemas anteriormente mencionados puede hacerse una interpretación fiable de los resultados obtenidos.

II. PATRON GENERAL DE FORMACION DE ESPINAS DENDRITICAS.

La curva de desarrollo del número de espinas dendríticas en función del tiempo responde a un patrón básico que se cumple, con ligeras diferencias cuantitativas, tanto cuando se considera el número de espinas a lo largo de la totalidad del tallo apical como cuando se consideran las espinas a nivel de cada capa cortical por separado. La existencia de una concordancia básica en la cronología del desarrollo de unas regiones a otras del neocortex ha sido puesta de manifiesto por EAYRS y GOODHEAD (1959) al estudiar mediante distintos parámetros los cambios que ocurren en el desarrollo cerebral de la rata. Las fases en el desarrollo que hemos observado en el intervalo de tiempo estudiado han sido:

- un primer periodo de crecimiento de espinas durante los primeros 25 días postnatales que supone la formación del 70%-80% de las espinas dendríticas del animal adulto.
- una estabilización entre los días 25-30 con retroceso más o menos claro del número de espinas (proceso de "rebote").
- un segundo periodo de crecimiento de espinas entre los días 40-80 de vida del animal que es más notorio a niveles corticales superficiales y
- una estabilización hacia los 120 días que marcaría la culminación de los procesos de maduración en la corteza visual.

La localización del máximo de desarrollo cerebral en rata durante los primeros 20 días postnatales es un hecho abundantemente probado. Así por ejemplo DOBBING (1974) señala que es en este periodo la máxima "oleada de desarrollo" o "grow spurt" del porcentaje

de peso cerebral por peso corporal en la rata.

Igualmente en términos de conectividad el máximo incremento en corteza cerebral de rata se ha situado entre los días 12-20 del desarrollo lo cual se traduce en una fuerte tasa de aumento de densidad axónica (EAYRS y GOODHEAD, 1959) y en una mayor tasa de aumento del número de sinapsis (AGHAJANIAN y BLOOM, 1967).

También el máximo desarrollo de la ramificación dendrítica de células piramidales está localizado entre los días 18-24 (EAYRS y GOODHEAD, 1959) lo cual coincide con el pico en el crecimiento de los núcleos celulares neuronales localizado por GYLLENSTEN (1959) entre los días 20-25 y que indica la máxima actividad anabólica de la corteza.

Por lo tanto el primer periodo de desarrollo de espinas coincide con un máximo de desarrollo de todas aquellas estructuras corticales implicadas en la formación de nuevas conexiones sinápticas, y se corresponde perfectamente con el desarrollo del número de espinas dendríticas encontrado por VALVERDE y RUIZ MARCOS (1969) y RUIZ MARCOS y VALVERDE (1969) a lo largo de los Tallos Apicales de las neuronas piramidales de la capa V de la corteza visual del ratón.

El segundo periodo de crecimiento de espinas localizado preferentemente a nivel de la capa III ha sido considerado en los estudios de privación visual, ya que estos normalmente se centran en los primeros 50 días de desarrollo postnatal.

No obstante GYLLENSTEN y col. (1965) encuentran un pico en el crecimiento del material citoplásmico/núcleo entre los 60-80 días

coincidente con lo observado por nosotros el cual implicaría según estos autores una formación tardía de nuevos contactos sinápticos.

También RYUGO y col. (1975) en su estudio de los efectos de la enucleación sobre las espinas dendríticas de dos poblaciones distintas de neurona piramidal se refiere a un desarrollo tardío de espinas el cual se relaciona con la maduración de interneuronas, la cual se produciría después de los 24 días. Como es sabido tras los estudios de MOREST (1969) a y b. y JACOBSON (1974) las microneuronas (= neuronas de axon corto) tienen un desarrollo y maduración posterior a las macroneuronas (= neuronas de axon largo).

La existencia de paradas o descensos en los procesos de desarrollo ha sido encontrada con cierta frecuencia dentro del Sistema Nervioso y concretamente en el Visual. Así por ejemplo KARLSSON (1967) encuentra un descenso transitorio del número de sinapsis en el Núcleo Geniculado Lateral de la rata el día 24 de vida, después del fuerte desarrollo anterior. CRAGG (1972), midiendo el número de sinapsis en la Corteza Visual Primaria del gato, encuentra un fuerte incremento durante las primeras 4 semanas de tal forma que entre los días 36-39 la densidad sináptica puede exceder a la del adulto. El hecho de que estas paradas o retrocesos en el desarrollo ocurran después de los período de mayor formación de células y contactos sinápticos y sean de alguna manera proporcionales a los mismos hace pensar en que puedan deberse a fenómenos de selección celular o selección de procesos celulares de acuerdo con la Teoría de Selección Natural de Conexiones Neuronales enunciada por RAMON y CAJAL (1911).

Dentro del patrón de desarrollo de espinas dendríticas común a las dos capas corticales estudiadas, capa IV y capa III, la diferencia fundamental entre ambas puede resumirse diciendo que la capa III se desarrolla algo más tardíamente que la IV o lo que es lo mismo el segundo periodo de crecimiento de espinas tiene mayor importancia que a nivel de la capa granular. Esto está de acuerdo con la existencia de un gradiente en el desarrollo cortical de forma que la maduración de la misma iría radialmente de dentro afuera en el tiempo. Las neuronas de las capas más profundas se generan más pronto y las más superficiales más tarde (BERRY y ROGERS, 1965; BERRY y col., 1964 a y b). El desarrollo dendrítico de las neuronas igualmente sigue la misma regla (SCHADE y col., 1962; MOREST, 1969b) así como la densidad axónica la cual se desarrolla mucho entre los días 12-14 en la capa IV y menos en la III. (EAYRS y GOODHEAD, 1959).

El cuadro cronológico del aumento de densidad sináptica en las diferentes capas de la corteza visual establecido por WOLFF (1976) para rata, gato y mono Rhesus ilustra de forma clara estas diferencias. Las capas II y III son las últimas en alcanzar valores adultos y en el caso de la rata solo se dá a este nivel el desarrollo de un gran número de sinápsis a partir del día 30 de vida.

Por lo tanto no hay un desarrollo uniforme de la densidad sináptica en las diferentes capas de la rata aunque si hay un patrón común que se cumple en todas ellas.

De forma general también puede decirse que los periodos de máximo desarrollo son los más sensibles frente a una determinada situación de deprivación o cambio ambiental (GYLLENSTEN, 1959; WILSON y RIESEN, 1966; RUIZ MARCOS y VALVERDE, 1969). A continuación vamos

a discutir los efectos que la enucleación uniocular y binocular producen sobre el patrón de desarrollo visto.

III. EFECTO DE LA ENUCLEACION UNIOCLAR Y BINOCULAR SOBRE EL PATRON GENERAL DE FORMACION DE ESPINAS DENDRITICAS.

A) EN TODO EL TALLO -

Si consideramos los efectos de la enucleación uniocular y binocular sobre el número global de espinas dendríticas por tallo apical de neuronas piramidales de la capa V, vemos que la alteración es escasa en términos generales en ambos hemisferios. No hay efecto apreciable tras Enucleación Monocular pero sí tras Doble Enucleación, en la cual las diferencias de mayor significación se encuentran a los 25 días y a los 65 y 80 días, desapareciendo posteriormente en virtud de un proceso de recuperación que discutiremos posteriormente al referirnos a la dinámica de sinaptogénesis en la capa IV.

El hecho de que los efectos de la enucleación bilateral sean mayores que los de la enucleación unilateral sobre el desarrollo de la corteza visual, pone en entredicho la Hipótesis Competitiva enunciada por HUBEL y WIESEL en 1963 y 1965 según la cual "los axones geniculoestriados procedentes del Núcleo Geniculado Lateral Dorsal compiten por los puntos postsinápticos de las neuronas corticales de tal modo que cuando la privación es monocular las fibras

correspondientes al ojo privado están en franca inferioridad con las otras produciéndose alteraciones muy profundas del desarrollo por el equilibrio ocasionado".

Esta teoría establecida merced a estudios de los campos receptivos de las neuronas visuales en la corteza del gado ha sido comprobada por GUILLERY y STELZNER (1970) y GUILLERY (1972) al estudiar los efectos de privación monocular y biocular en la estructura del Núcleo Genuculado Lateral. CRAGG (1969) establece que tras privación binocular la sinaptología del NGL no se altera fundamentalmente. Sin embargo en lo que se refiere a la Corteza Visual los resultados obtenidos en este tipo de estudios no cumplen frecuentemente las condiciones impuestas por la Hipótesis Competitiva (GLOBUS y SCHEIBEL, 1966) en conejos y GUILLERY y KAAS (1973) en gatos. Según estos autores el efecto a nivel cortical parece estar afectado por un factor adicional de carácter integrativo que hace que no siempre pueda correlacionarse el efecto visto a nivel del Núcleo Genuculado Lateral con el efecto a nivel de la corteza cerebral. Así por ejemplo la ablación del Núcleo Genuculado Lateral produce un descenso sobre el número de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la corteza Visual del conejo similar al producido por la enucleación (GLOBUS y SCHEIBEL, 1966).

No obstante hay una especificidad importante de estos efectos que se circunscriben a las áreas corticales inervadas por la radiación de impulsos afectada. Así la enucleación y privación monocular no alteran el desarrollo de la Corteza Cingulada (COLEMAN y RIESSEN, 1968) ni temporal (VALVERDE, 1967).

Vamos a pasar seguidamente a considerar el efecto de la enu-

cleación sobre el desarrollo de espinas dendríticas según las capas de la corteza buscando su explicación en función de las diferentes características de conectividad de las mismas.

B) A NIVEL DE LA CAPA IV -

- Efecto sobre el primer periodo de desarrollo -

Como hemos visto en Resultados, la enucleación no produce variaciones en el crecimiento de espinas del hemisferio ipsilateral al ojo enucleado. Los efectos sobre el hemisferio contralateral consisten fundamentalmente en a) una menor intensidad del primer periodo de formación de espinas y b) una formación incrementada de espinas dendríticas durante el segundo periodo de formación tardía que hará que se establezcan los valores normales al final del periodo estudiado. En el caso de la Doble Enucleación ambos efectos se dan de manera similar pero con mayor reducción del número de espinas durante el primer periodo de desarrollo.

El efecto de la enucleación monocular sobre la Corteza Visual se estudió primeramente mediante el método de NISSL en rata y en el conejo, encontrándose un descenso generalizado de parámetros tales como espesor cortical, peso y tamaño neuronal en el hemisferio contralateral al ojo enucleado (TSANG, 1937; LINDNER y UMRATH, 1955; BENNETT y col., 1964).

Mediante el método de GOLGI, GLOBUS y SCHEIBEL (1967 b) encontraron en el conejo un descenso del número de espinas dendríticas que afectaba a los 2/4 centrales de los tallos apicales de las neuronas piramidales. El nivel en que estos autores localizan el efec

to coincide con el encontrado por nosotros, extendiéndose entre las capas IV y III. La cuantía del efecto no es comparable ya que el parámetro utilizado por ellos número de espinas/micra es a nuestro entender menos fiable ya que depende de la diferente longitud neuronal.

VALVERDE (1968) encuentra también tras enucleación en ratón disminución significativa en el número de espinas en los segmentos de dendrita apical localizados a nivel de la capa IV la cual es más pronunciada a los 24 días de edad, hecho que coincide con lo dicho anteriormente.

RYUGO y col (1975) consideran un efecto diferencial de la enucleación sobre dos diferentes poblaciones de neuronas piramidales de la capa V de la corteza visual primaria de la rata: la localizada entre 500-600 μ de espesor sobre la que la enucleación no ejerce efecto y la localizada entre 650-850 μ sobre la que se produce un descenso significativo del número de espinas similar al encontrado por nosotros. La distribución en capas utilizada por estos autores no es coincidente con la utilizada por nosotros (según PARNAVELAS y col., 1977) ya que la población de piramidales superficiales pertenecía según nuestro criterio a la capa IV. Por lo tanto la población considerada en nuestro estudio sería la de piramides profundas de RYUGO y col. (1975) coincidente con las "grandes piramidales aferentes" de LORENTE DE NO (1933) sobre la que sí ejerce efecto la enucleación. GLOBUS y SCHEIBEL (1967 b) afirman tras realizar contejes de espinas dendríticas en diferentes partes de las neuronas piramidales que el efecto de la enucleación sobre estas células se localiza a nivel de la dendrita apical. Esto no parece ser cierto

trás el estudio de RUIZ MARCOS y VALVERDE (1970) que demuestran mediante un método computerizado que la ramificación basal de las neuronas piramidales de la capa III (situadas en la capa IV) se afecta en su densidad siendo este efecto especialmente grande el día 24 postnatal. Como se mencionará más adelante nosotros también hemos encontrado un descenso significativo en las espinas de las dendritas oblicuas si bien este efecto se hacía patente a los 40 días, edad no incluida en el estudio de GLOBUS y SCHEIBEL (1967 b).

Los trabajos de FIFKOVA sobre deprivación monocular en rata utilizan la sutura de párpados como situación experimental. Sus resultados reflejan un descenso en el número de espinas dendríticas en los tallos piramidales a nivel de la capa IV y V (FIFKOVA, 1968). Este efecto visto sobre la V se debe a que la distribución utilizada por este autor en todos sus trabajos da a la capa V un espesor mayor que la distribución utilizada por nosotros con lo cual parte de la capa IV le queda incluida en ella. La sutura monocular de párpados también determina una distribución en el espesor de las capas II-IV así como un incremento de densidad celular afectando a la capa III y IV (FIFKOVA, 1970).

Los efectos de la deprivación binocular son en términos generales similares a los de la deprivación monocular en lo que respecta a aspectos estructurales. GYLLENSTEN y col. (1965) encuentran un descenso en el espesor del cortex visual, en el diámetro de los núcleos celulares y en el volumen medio del material internuclear/núcleo en la corteza visual de ratones en los dos primeros meses de desarrollo en completa oscuridad. Trás doble enucleación GYLLENSTEN y col. (1967) encuentran mayores efectos sobre los mismos paráme-

tros. CRAGG (1967) observó un descenso generalizado de densidad sináptica tras cria de oscuridad en gatos y GAREY y PETTIGREW (1974) profundos cambios en la ultraestructura sináptica.

En cuanto al número de espinas dendríticas de los tallos apicales GLOBUS y SCHEIBEL (1967 a) no encuentran en el conejo descenso significativo tras cria en la oscuridad a los 30 días de vida pero sí deformaciones en la morfología de las espinas localizadas en el 60% central de los tallos apicales. Sin embargo RUIZ MARCOS y VALVERDE (1969) encuentran un descenso de este parámetro a lo largo de todo el tallo apical en ratones criados en oscuridad completa. Nosotros tras Doble Enucleación encontramos descenso en el número de espinas a nivel de las capas IV y III como en el hemisferio afectado directamente por la enucleación monocular aunque más acenuado. Parece no obstante que por lo que respecta a la capa IV no hay diferencias profundas entre los efectos de la enucleación monocular y biocular.

La cuantía e importancia de la alteración producida por la degeneración de la vía óptica sobre el primer periodo de crecimiento de espinas nos va a permitir más consideraciones sobre el determinismo del mismo. Hay que tener en cuenta primero que la apertura de ojos en la rata se produce hacia el día 14 de vida postnatal del animal y por lo tanto podría plantearse la dependencia entre él y el fuerte desarrollo cerebral encontrado a esa edad.

No obstante parece preferible pensar en un fuerte determinismo intrínseco de este proceso. Así la formación de espinas dendríticas anterior al día 14 podría ser inducida por el funcionamiento latente de la retina que en la rata comienza el día 5 de vida (CRAGG,

1975 a). No obstante el hecho de que después de la enucleación, con la correspondiente destrucción retiniana no se produzca ninguna al teración del proceso hace abandonar tal hipótesis. También parece haber una cierta independencia respecto a la llegada de axones geniculoestriados que apareciendo a nivel de la capa IV del area 17 en el día 25 después de la gestación no inducen la aparición de es pinas hasta unos días más tarde (LUND, 1976).

Después del día 14 la enucleación produce un descenso en el aumento del número de espinas dendríticas pero este sigue siendo importante hasta el día 25 de vida.

Por lo tanto el proceso sinaptogénico de las células piramidales estudiadas no ha sido suprimido sino sólo reducido cuantitativamente. La determinación intrínseca de la respuesta neuronal frente a la enucleación queda claramente ilustrada por los experimentos de RYUGO y col (1975) antes mencionados en los que dos poblaciones de neuronas piramidales topográficamente muy próximas responden a la misma de manera diametralmente diferente.

No obstante, la modulación del efecto que la enucleación con la consiguiente degeneración transneuronal de la vía óptica produce sobre la sinaptogénesis cerebral, hay que explicarla a través de la conectividad de dicha vía aferente a nivel de la corteza visual primaria.

La distribución de las aferencias específicas geniculoestriadas ha sido abundantemente estudiada por diversos métodos coincidentes todos ellos en señalar que la capa IV es la principal receptora seguida de la III con algo de menor intensidad. Así por ejemplo

VALVERDE (1968) tras enucleación y mediante el método de FINK-HEIMER establece los siguientes porcentajes de degeneración en el ratón: 64.3% capa IV, 15.2% capa III, 10% capa V y 5.8% capa VI. También por el método de FINK-HEIMER y microscopía electrónica GAREY (1970) encuentra en el gato el máximo de degeneración en la capa IV afectándose también la III y la I.

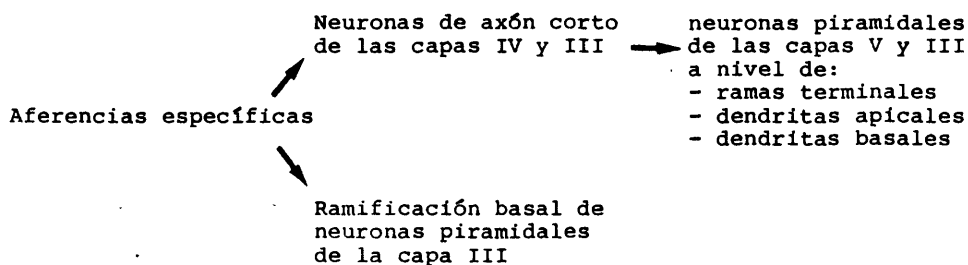
En la rata PETERS y FELDMAN (1976) estudian la vía geniculoes triada mediante lesión en el NGL y observación óptica y electrónica encontrando resultados similares: máxima afectación en la capa IV y parte profunda de la III y alguna intensidad a nivel de las capas I y VI. Estos resultados son coincidentes con los obtenidos por RIBAK y PETERS (1975) mediante autoradiografía de aminoácidos marcados.

La constitución del circuito formado por aferencias específicas y neuronas piramidales afectoras ha sido más discutida. GLOBUS y SCHEIBEL 1966, 1967 a y 1967 b, basándose en los efectos de la oscuridad y enucleación sobre las dendritas apicales propugnaron un contacto directo entre ellos y las aferencias específicas visuales. Sin embargo, la intervención de interneuronas entre ambos elementos habría sido señalada desde antiguo (LORENTE DE NO, 1949 y O'LEARY, 1941) poniéndose después de manifiesto por numerosos autores mediante el método de GOLGI (COLONNIER, 1966; MARIN PADILLA, 1967; SZENTAGOTHAÏ, 1965 y VALVERDE y RUIZ MARCOS, 1969) así como con microscopía electrónica (COLONNIER y ROSSIGNOL, 1969; GAREY, 1970; GAREY y POWELL, 1971; GHETTI y WISNIEWSKI, 1972; SZENTAGOTHAÏ, 1973; PETERS, 1976; y PETERS y FELDMAN, 1976; PARNAVELAS, 1977) señalándose su existencia en todos los animales estudiados.



Existen, no obstante, algunos contactos directos entre las aferencias específicas y las dendritas apicales de las neuronas piramidales localizadas en las regiones proximales de los mismos (PETERS y KAISERMAN-ABRAMOF, 1970 y SZENTAGOTHAI, 1973).

El esquema de conexiones dado por RUIZ MARCOS y VALVERDE (1970) resume de forma muy completa los circuitos que se establecen a partir de las aferencias específicas geniculoesstriadas.



La identificación del tipo de interneurona que se intercala entre la aferencia específica y la neurona piramidal efectora es un problema particularmente difícil que no ha podido aclararse completamente con los métodos de estudio utilizados (microscopio elecra general para todas las regiones sensoriales primarias de la Corteza Cerebral que los elementos receptores de las aferencias específicas son:

- Un tipo característico de neurona estrellada con espinas dendríticas situadas a nivel de la capa IV y III profunda.
- Dos tipos de neurona de axón corto lisa: uno de ellos de perica-

rion redondeado con dendritas finas y cortas emergiendo en todas las direcciones hacia el neuropilo circundante. El otro sería de pericarion más oval con las dendritas emergiendo de los dos polos de la célula y ramificándose escasamente constituyendo columnas estrechas.

Este último tipo celular estudiado ya por COLONNIER en 1966 y por SZENTAGOTHAÏ en 1973, se concede un enorme significado funcional en cuanto a la sinaptología de las dendritas piramidales alrededor de las cuales se sitúan específicamente sus axones de forma concordante con la disposición columnal generalmente admitida en la corteza cerebral (HUBEL y WIESEL, 1962; WIESEL y col., 1974; LE VAY y col., 1975; HUBEL y col., 1976).

La alteración de las interneuronas por la enucleación o deprivación visual en términos de alteración de campos dendríticos fue primeramente negada por GLOBUS y SCHEIBEL (1967) en el conejo y posteriormente admitida por COLEMAN y RIESEN (1968) en el gato, VALVERDE y RUIZ MARCOS (1969) en ratón, FIFKOVA (1967-1970 b) y FIFKOVA y HASSLER (1969) en rata así como por BORGES y BERRY (1976) también en rata.

Por todo ello puede pensarse en que las alteraciones observadas en las espinas dendríticas de los tallos piramidales se producen a través de alteraciones previas en neuronas de axon corto que transmiten el efecto a nivel de las capas IV y III. Este punto tendrá importancia cuando consideremos la inducción del desarrollo de espinas dendríticas de acuerdo con nuestros resultados.

Un aspecto importante a considerar es la naturaleza del efecto de la enucleación sobre el número de espinas dendríticas el cual

puede consistir en: a) degeneración de las mismas inducida por degeneración transneuronal de la vía óptica ó b) retraso del proceso de desarrollo de las mismas.

Según nuestros resultados los efectos de la enucleación tanto monocular como binocular se localizan casi exclusivamente en los periodos de desarrollo de espinas en forma de menor tasa de crecimiento en el número de las mismas. Esto hace que se haya tomado como cierta la hipótesis del retraso del proceso de desarrollo que concuerda con la idea de "cambio en la dinámica estructural" de COWAN (1970), VALVERDE (1968) y CHOW (1973) frente a la de eliminación de espinas dendríticas por degeneración.

Si bien algunos autores como GRAY (1959), WALBERG (1963), COLONNIER (1964) y BLACKSTAD (1965) encuentran evidencias de fagocitosis de espinas dendríticas tras degeneración de la vía óptica a nivel del área 17 otros trabajos como los de JONES y POWELL (1970) GAREY y POWELL (1971), GHETTI y WISNIESKY (1972) y PETERS y FELDMAN (1976) no encuentran degeneración de elementos postsinápticos ni separación de los mismos de la dendrita originaria. La citología de las espinas no parece alterarse fundamentalmente por la presencia de terminales degenerativos y la hipertrofia de astrocitos existente en estos casos (GRAY y GUILLERY 1966; WESTRUM, 1969; RAISMAN y MATTHEWS, 1972 y PETERS y FELDMAN, 1976) debe estar relacionada con el aislamiento y desaparición de los axones pertenecientes a la vía geniculoestriada, degenerados en el neuropilo.

La idea de una gradación de sucesivos estadios de desarrollo en las espinas dendríticas que se irían progresivamente complicando para alcanzar mayor eficacia biológica está subyacente en todos

aquellos trabajos que describen diferentes tipos de espinas en la Corteza Cerebral. (GRAY, 1959; JONES y POWELL, 1969; PETERS y KAISERMAN-ABRAMOF, 1969-1970). FREIRE en 1978 realiza un estudio con microscopía electrónica del efecto de la deprivación visual sobre el desarrollo de las espinas dendríticas en la capa IV que demuestra lo dicho anteriormente. El describe tres estadios en el desarrollo de las espinas: el 1 en el que no se ha desarrollado aún con contacto sináptico ni aparato de la espina, el 2 con contacto sináptico visible pero sin aparato de la espina y el estadio 3 en el que se han desarrollado ambas estructuras y se corresponde con el tipo clásico de espina dendrítica considerado por nosotros. Empleando métodos estadísticos se demuestra que la deprivación retrasa el desarrollo de las espinas las cuales aparecen en mayor proporción en los estadios 1 y 2 de menor desarrollo. No habiendo aparecido síntomas de degeneración en las mismas puede pensarse en una detención general del desarrollo que como hemos visto se dejara sentir principalmente en los períodos en que el desarrollo sea mayor.

Trás la disminución del primer periodo de crecimiento de las espinas dendríticas se observa que tanto en el hemisferio afectado directamente por la enucleación monocular como trás enucleación binocular no aparece el fenómeno de "rebote" que se daba en los animales control. De acuerdo con lo que se ha dicho anteriormente sobre una "selección de procesos celulares" que determinara un descenso de la conectividad se podría pensar que trás la enucleación, y al haberse producido menos contactos sinápticos, la selección posterior de los mismos no se lleva a cabo con objeto de conservar en lo posible la eficacia funcional de las células.

Efecto de la enucleación sobre el segundo periodo de desarrollo de espinas. Recuperación tardía de la capa IV.

Habíamos observado tras la disminución de la intensidad del primer proceso de desarrollo de espinas, producida por la enucleación, un aumento en el segundo proceso de formación que llevaba a una recuperación de los valores normales de la variable Espinas/segmento, recuperación que sólo ocurría a nivel de la capa IV. El efecto era más fuerte en los animales monocularmente enucleados, en cuyo hemisferio afectado (IA) ya había recuperación a los 80 días, que en los doblemente enucleados en los cuales se mantienen las diferencias significativas hasta el día 120.

Mediante la realización de histogramas de frecuencias del número de espinas dendríticas por tallo apical a nivel de la capa IV a los 40 y 120 días se comprobó que la recuperación afecta en el hemisferio afectado por la enucleación a todas las neuronas piramidales no pudiendo separarse dos poblaciones distintas según el efecto (FIGURA - 38).

La existencia de procesos de recuperación de estructuras del sistema visual dañadas por la deprivación ha sido mencionada por SZENTAGOTHAÏ y HAMORI (1969), KALLIL (1972) y GYLLERY (1972 b), en el Núcleo Geniculado Lateral. En la Corteza Visual hay cuatro trabajos fundamentales en este sentido: los de GYLLENSTEN y col. (1965 y 1967), el de VALVERDE en 1968 y el de RUIZ MARCOS y VALVERDE (1970). A ellos nos vamos a referir seguidamente.

GYLLENSTEN y col. (1965) encuentran una normalización a los 120 días del diámetro de los núcleos celulares y del volúmen medio

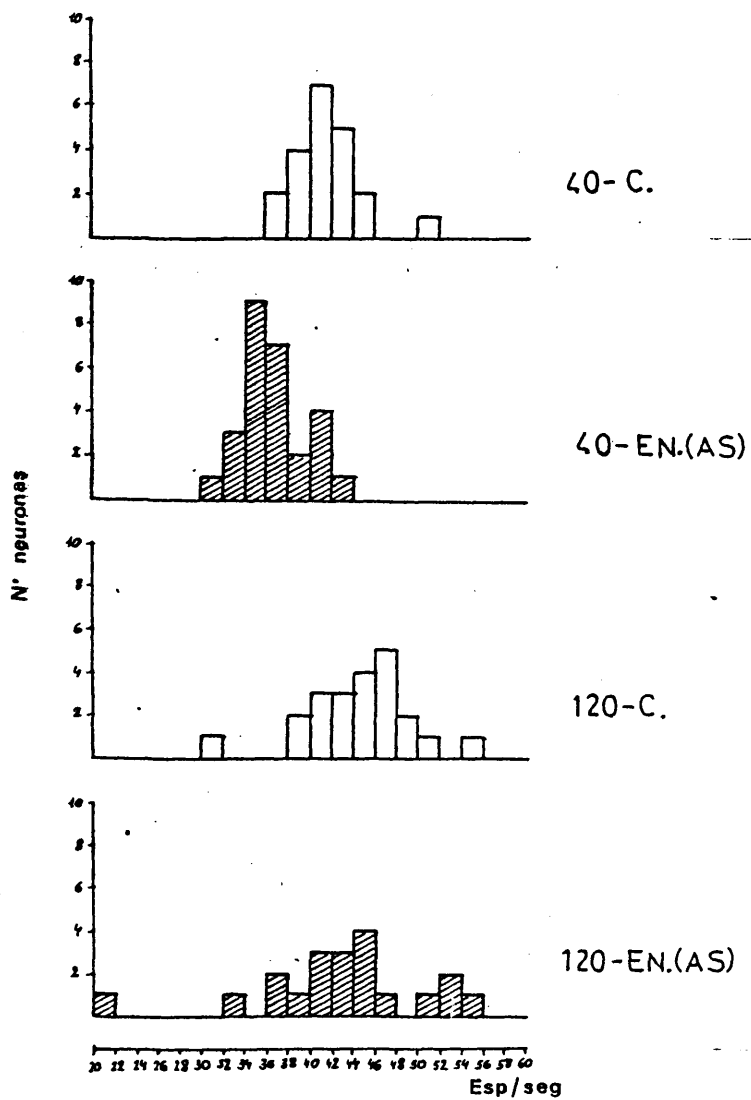


Figura 38.- Histograma de Frecuencias del Número de Esp./seg. a nivel de la capa IV en ratas CONTROL y MONOCULARMENTE ENUCLEADAS (LA) de 40 y 120 días.

del material internuclear de las células del NGL y de la Corteza Visual de ratones mantenidos en oscuridad, así como una recuperación del valor normal del espesor de la corteza visual. Los tres parámetros habían sido significativamente afectados por la deprivación a los dos meses de edad. En corteza la recuperación se localizó especialmente en la capa IV aunque las capas supragranulares III y II también mostraron el fenómeno.

Al haber el mismo tipo de estudio tras remoción bilateral de los ojos GYLLENSTEN y col. (1967) no encontraron la recuperación a los 120 días en cuanto al diámetro nuclear y al volumen medio del material internuclear pero si en lo referente al espesor cortical.

VALVERDE (1968) realiza contajes de espinas dendríticas en neuronas piramidales del área 17 del ratón a nivel de las capas V, IV y III tras enucleación monocular a las edades de 24 y 48 días. Observó que en la capa IV el efecto sobre el hemisferio contralateral al ojo enucleado (LA) era más pronunciado a los 24 que a los 48 días de edad en la que se había producido una recuperación importante.

RUIZ MARCOS y VALVERDE (1970) estudiaron la ramificación dendrítica basal de las neuronas piramidales de la capa III y V de ratones de 19, 24 y 70 días enucleados monocularmente al nacer. Encuentran un descenso significativo de densidad dendrítica bajo el soma de las piramidales de la capa III, esto es a nivel de la capa IV muy pronunciado el día 24 el cual había desaparecido el día 70.

Todos estos trabajos coinciden en dejar circunscrito el mecanismo compensatorio a nivel de la capa IV de la corteza visual tal y como nosotros hemos encontrado.

Las causas de estos procesos de recuperación tras procesos largos de privación no son aún bien conocidas pudiendo sugerirse las siguientes explicaciones:

1) Estimulación a través del haz visual ipsilateral.

La vía retinogenuculada no cruzada es de escasa importancia en la rata, constituyendo aproximadamente un 10% del tracto óptico (CUNNINGHAM y LUND, 1971; LUND y CUNNINGHAM, 1972). No obstante, LUND y col., 1973 han demostrado un incremento muy significativo de la proyección óptica no cruzada tras enucleación de un ojo en ratas de menos de 12 días de edad.

Esta explicación concuerda muy bien con el hecho de que se recupere el Núcleo Genuculado Lateral y la capa IV de la corteza visual ya que es el principal receptor de las aferencias específicas. El efecto tardío puede derivarse de la lentitud en la redistribución de fibras.

Lo que no explica esta teoría es que la recuperación aparezca también sobre doble enucleación. No obstante, en este caso ya hemos visto que se da con intensidad menor lo que hace suponer una cierta influencia del elemento considerado.

2) Determinación debida a factores genéticos intrínsecos que compensen la falta de estimulación funcional en el desarrollo. Esta hipótesis parece requerir un efecto más global y no sólo ubicado a nivel de una capa de la Corteza. No obstante y debido a la importancia vista de los factores intrínsecos en el desarrollo de las neuronas hay que tener presente esta explicación.

3) GYLLENSTEN y col. (1965-1967) sugieren que la recuperación observada por ellos tras periodos largos de privación visual viene inducida por la actividad espontánea de las células ganglionares retinianas la cual continúa en oscuridad (GRANITT, 1955; ARDUINI, 1963; LEVICK y WILLIAMS, 1964; RODIECK y SMITH, 1966).

A la luz de nuestros resultados en enucleación, con la consiguiente destrucción de la retina, debe abandonarse dicha hipótesis.

4) Estimulación tardía de la corteza visual por vías extravisuales, las cuales pueden incluso incrementarse en condiciones de privación visual llevando a cabo la compensación de sus efectos.

El carácter multisensorial de la corteza visual ha sido señalado por bastantes autores (KRECH y col., 1963; DIAMOND y HALL, 1969 y MYSLIVECEK y HASSMANOVA, 1974) y últimamente se ha cuantificado el efecto de las aferencias inespecíficas sobre el desarrollo de espinas dendríticas de la corteza visual (RUIZ MARCOS y col., 1979).

Esta teoría no explica la recuperación de centros visuales subcorticales y tampoco parece estar de acuerdo con que la capa afectada sea la IV que es la de menor componente intracortical.

5) Desequilibrio en los mecanismos homeostáticos corticales: se tienen algunas evidencias de pérdidas de inhibición tanto morfogenética como funcional en ciertas estructuras del sistema visual como consecuencia de determinados daños. Así por ejemplo ALTMAN y DAS 1966 y ALTMAN 1966 encontraron una formación descontrolada de células después de la enucleación. También existe pérdida de inhibición funcional motivada por lesiones en regiones localizadas de la cor-

teza visual que tienden a producir hiperactividad o hiperexcitabilidad (POSTERNAN y col., 1955; JACOBSON y SUZUKI, 1962; SCHERRER y FOURMENT, 1964 y SPRAGUE, 1966).

Si bien estas activaciones podrían constituir mecanismos compensatorios como el observado por nosotros hay que tener en cuenta que en este caso no hay síntomas de desequilibrio del proceso, ya que este ocurre según el patrón normal y sin alterar la distribución normal de espinas dendríticas descrita por el Modelo Matemático de RUIZ MARCOS y VALVERDE (1969) como se verá posteriormente.

Como hemos visto no hay una hipótesis que explique completamente la recuperación tardía. A la luz de nuestros resultados volvemos a pensar en un proceso intrínseco de normalización genéticamente determinado modulado en mayor o menor grado por la reorganización del tracto visual ipsilateral y por impulsos extravisuales.

C) A NIVEL DE LA CAPA III

Efecto de la Enucleación sobre el hemisferio contralateral al ojo enucleado (LA).

En este hemisferio y al igual que en la capa IV se produce una reducción de la intensidad del primer periodo de crecimiento de espinas dendríticas que determina diferencias estadísticamente significativas a partir del día 25 de vida. Del mismo modo y al igual que en la capa granular desaparece el proceso "de rebote" encontrado a los 30 días.

La similitud de los efectos de la enucleación entre las capas IV y III en el hemisferio contralateral al ojo enucleado se explica por la modulación a través del haz geniculoestriado de fibras aferentes específicas a la corteza visual el cual, como hemos visto afecta también a la capa III (VALVERDE, 1968; PETERS y FELDMAN, 1976, entre otros). El efecto de la privación visual sobre los tallos apicales de las neuronas piramidales de la capa V a nivel de la capa III ha sido también puesto de manifiesto anteriormente por GLOBUS y SCHEIBEL 1967 a y b, y VALVERDE, 1967 y 1968 con una cronología similar a la encontrada por nosotros.

Hay que hacer notar sin embargo que el número de trabajos sobre efectos de la privación visual a nivel de la capa III es mucho menor que para la capa IV dado que ésta se consideraba como el principal receptor de los efectos.

El 2do. periodo de desarrollo de espinas no está alterado en la capa III del hemisferio LA en relación con el de los controles. No existe aumento en la intensidad de formación de espinas con lo cual no aparece la recuperación de los valores de espinas dendríticas vista en la capa IV quedando con un déficit permanente aparentemente. Este hecho ya era indicado por VALVERDE (1968) que no veía indicios de recuperación de la capa III después de la enucleación monocular en ratones de 48 días.

La discusión de este punto se ha realizado globalmente al tratar del fenómeno compensatorio en la capa IV.

Efecto sobre el hemisferio ipsilateral al ojo enucleado (LNA) y sobre los hemisferios visuales tras doble enucleación. Fenómeno de "cruce".

Hemos observado que la enucleación monocular produce un decremento en la intensidad del segundo periodo de formación de espinas dendríticas a nivel de la capa III del hemisferio ipsilateral al ojo extirpado, que determina una diferencia significativa del número de espinas por segmento en esta capa a partir de los 65 días de vida de la rata. Este fenómeno que hemos llamado "cruce del efecto de la enucleación en la corteza visual" se produce también en el área 17 de ambos hemisferios tras enucleación binocular.

El proceso observado ha sido escasamente mencionado anteriormente en la literatura debido a una serie de causas tales como: a) que los estudios de privación visual se limitan en gran parte al periodo temprano de desarrollo y no llegan a la edad de 65 días en la cual es ya patente la afectación del hemisferio ipsilateral. 2) Algunos estudios de privación monocular no consideran este hemisferio centrandose sus observaciones en el contralateral al ojo afectado en relación a parámetros control y 3) Un gran número de trabajos se limitan sólo a los efectos sobre la capa IV ya que ésta es la receptora principal de las aferencias específicas visuales. No obstante, se han citado efectos cruzados de la enucleación unilateral sobre el núcleo geniculado lateral, ipsilateral al ojo enucleado, en términos de una retracción tardía del volumen celular (FIFKOVA y HASSLER, 1969; BERRY, 1976).

En corteza visual primaria de ratones de 48 días, VALVERDE (1968) observó un descenso significativo de espinas dendríticas

($p < 0.025$) en el hemisferio ipsilateral al ojo enucleado (LNA) a nivel de la capa III. Esta observación es similar a la nuestra, aun que registrada a una edad algo más temprana en el desarrollo.

Posibles explicaciones del fenómeno de cruce observado.

1) Propagación del efecto por la vía óptica no cruzada.-

Como ya se ha visto en el capítulo anterior y según los estudios de LUND y col., (1973) después de la enucleación unilateral hay una potenciación del haz de fibras cruzadas que llegan al hemisferio contralateral al ojo afectado pudiendo determinar la recuperación tardía observada a nivel de la capa IV.

Dado que el incremento del haz contralateral se produce a ex pensas de axones originariamente destinados a inervar el hemisferio ipsilateral al ojo enucleado merced a una anomalía en la distribución a nivel del quiasma óptico (LUND y col., 1973) es lógico que las aferencias geniculoesstriadas a este hemisferio sean insuficientes en un estadio tardío del desarrollo.

Si bien esta hipótesis explica muy bien los efectos a nivel del Núcleo Geniculado Lateral del mismo lado del ojo enucleado, no concuerda con el hecho de que la deficiencia se centre específicamente a nivel de la capa III y no de la IV que es la de mayor recepción de las aferencias específicas.

El hecho de que la capa III tenga un fuerte componente corti-co-cortical e interhemisférico hace pensar en un efecto mediado por vías nerviosas de esta naturaleza.

2) Propagación del efecto por vías comisurales procedentes del he-

misferio directamente afectado por la enucleación (LA).-

La primera hipótesis a considerar es la de un efecto directo entre las áreas visuales primarias de ambos hemisferios (Area 17 contralateral sobre Area 17 ipsilateral a la enucleación).

De acuerdo con la llamada regla de FLECHSIG de la neuroanatomía clásica, según la cual las áreas sensoriales primarias del neocortex nunca envían ni reciben proyecciones interhemisféricas, algunos de los primeros investigadores de estos temas como CURTIS (1940) y GAROL (1942) negaron que el área 17 pudiera recibir fibras procedentes de igual área del hemisferio cerebral opuesto. Contra esta idea generalizada estaban las observaciones histológicas realizadas con el método de GOLGI por autores tales como LORENTE DE NO (1922-1949) y RAMON y CAJAL (1952).

La controversia sobre este punto aumentó posteriormente debido a la variedad de resultados según las diferentes técnicas de estudio utilizadas. Utilizando el método de NAUTA-GYGAX (1954) de trazado de fibras degeneradas EBNER y MYERS (1965) encuentran ausencia total de terminales degenerados en el área 17 tras remoción total del Cuerpo Calloso y Comisura Anterior o total destrucción del hemisferio cerebral opuesto. Con el método argéntico de FINK-HEIMER (1967) diversos autores como HEIMER y col. (1967), JACOBSON (1970) y (1971) encuentran terminales degenerados en el área estriada de la rata después de seccionar al Cuerpo Calloso. La densidad encontrada era ligera y se localizaba especialmente en el tercio lateral al área 17 próximo a su unión con el área periestriada 18 (a). Esta región fue denominada área paravisual por LUND y LUND (1970) los

cuales también encontraron terminales comisurales en la misma después de realizar estudios combinando los métodos de NISSL, NAUTAGYAX y FINK-HEIMER. Otros estudios de degeneración llevados a cabo en animales distintos de la rata también han demostrado que tras lesión del área 17 se observa degeneración terminal en las áreas visuales contralaterales 17, 18 y 19 (GAREY y col., 1968; MAKAROV, 1968-1969 y WILSON, 1968).

Estos hallazgos son fuertemente reforzados por los resultados obtenidos del estudio de los campos respectivos de las unidades callosas las cuales representan el contingente más importante de fibras comisurales afectando la corteza visual (BERLUCCHI y col., 1967 y HUBEL y WIESEL, 1968). En estos registros de las fibras comisurales callosas procedentes de la corteza visual aparecen en ellas unas propiedades de respuesta virtualmente idénticas a las descritas por HUBEL y WIESEL, (1959) y (1965), para las neuronas de las áreas 17, 18 y 19 en el gato, es decir simples, complejas e hipercomplejas (BERLUCCHI y col., 1967 y HUBEL y WIESEL, 1968). El hecho de que las células simples sean privativas del área 17 obliga a pensar que tales fibras callosas y neuronas del área 17 contralateral afectadas son dirigidas por impulsos procedentes de neuronas del área 17 contrapuesta.

Igualmente TOYAMA y col (1969) demostraron que las neuronas del área visual primaria pueden ser antidromicamente estimuladas a partir del área 17 contralateral.

Todos estos trabajos unidos a los recientemente publicados de WOLFF y ZABORZKY (1979), utilizando la técnica de GALLYAS y col. (1979) para visualización de terminales degenerados, confirman que

el área 17 recibe fibras callosas que aunque en ligera proporción se hacen más abundantes en el borde de unión con el área 18 (a). La diferente distribución laminar de las aferencias callosas según las áreas es un tema también muy controvertido debido a la variabilidad de resultados impuesta por los diferentes métodos. El primero en constatar que existe una diferente distribución de fibras callosas según las capas de la corteza fué VILLAVERDE (1924, 1932 a, b y c), que mediante el método de plata reducida añadido al de GOLGI postuló la importancia de las capas supragranulares como receptores de fibras interhemisféricas, tal y como se ha comprobado recientemente.

Mediante el método de NAUTA y GYGAX ya mencionado anteriormente, NAUTA y BUCHER (1954) afirman de modo general que la capa más afectada por la degeneración callosa era la VI seguida de la V, IV y por último la III con escasísimo componente interhemisférico. JACOBSON (1970), en un estudio mediante el método de FINK-HEIMER, llega a conclusiones muy diferentes ya que localiza la máxima densidad de terminación callosa en las capas supragranulares (I-III) seguida por este orden por la encontrada en las capas VI, V y por último la IV.

Los resultados de LUND y LUND (1970) en el área paravisional de la rata son plenamente coincidentes con lo anterior.

WOLFF y ZABORSKY (1979) con métodos de tinción selectiva y consistente de fibras degeneradas y lisosomas encuentran que la distribución laminar de las terminales callosas es bastante variable de un área a otra, pero en general la concentración va de más a menos por este orden: III-VI-I-V-II.

Parece por lo tanto que de forma indudable puede afirmarse que la capa III es en el área visual primaria, la de más componente calloso, lo cual apoya la interpretación de que el descenso de espinas dendríticas por nosotros observado sea un efecto mediado por el cuerpo calloso.

Es importante también considerar la contribución del área 17 visual a la formación del cuerpo calloso, así como los tipos de células que dan origen a las fibras del mismo dentro de la discusión de la hipótesis de un efecto Area 17 LA — Area 17 LNA en que nos encontramos.

Si bien casi todos los trabajos admitían la contribución del área visual primaria al cuerpo calloso el uso de diferentes técnicas de estudio también dió lugar a discrepancia de opiniones en cuanto a las capas de mayor aferencia. Así, mediante la técnica retrógrada de NISSL, PINES y MAIMAN (1939), localizan la aferencia en las capas III y VI. Con el método de GOLGI, LORENTE DE NO (1949) y CHANG (1953) en las capas V y VI. JACOBSON (1971) afirma que la contribución laminar es homotópica a la distribución terminal con lo cual las capas eferoras principales serían las supragranulares. YORKE y CAVINESS (1975) usando el método de transporte axonal anterógrado de peroxidasa (HRP) establecen la máxima contribución de fibras callosas en las neuronas piramidales de las capas III y V. Algo menos de importancia conceden a las células polimórficas de la capa IV no tiene intervención alguna en la formación del cuerpo calloso. Esto último se contradice con lo encontrado por INNOCENTI y col. (1977) también mediante uso de HRP que si bien coinciden con YORKE y CAVINESS (1975) en la importancia de las capas III y V en-

cuentran una cierta contribución callosa en las neuronas de la capa granular.

El hecho de que las neuronas eferentes callosas del área 17 sean las neuronas piramidales de las capas III y V, las cuales se afectan por la enucleación monocular y binocular tal como hemos visto nosotros y otros numerosos autores (ver cap. 3 apartados A y B) unido a la existencia de una proyección callosa, que aunque de débil intensidad, afecta al área 17 contrapuesta hace que esta primera hipótesis discutida merezca la pena de ser considerada, máxime cuando hemos visto que la capa III, en la que se localiza el efecto observado, es la de mayor recepción callosa.

La segunda hipótesis a considerar en el caso de una intervención comisural en el cruce del efecto de la enucleación es la de suponer la mediación de alguna de las áreas periestriadas en el proceso, según el esquema: 17 LA — 18 ó 18 (a) — 17 LNA.

La casi totalidad de los trabajos que han estudiado la distribución de la radiación callosa coinciden en afirmar que las áreas periestriadas poseen una fortísima densidad de terminales callosos (NAUTA y BUCHER, 1954; EBNER y MYERS, 1965, HEIMER y col., 1967; JACOBSON, 1970, LUND y LUND, 1970, etc...).

VALVERDE y ESTEBAN (1968) además de dar un cuadro detallado de las conexiones homolaterales y comisurales entre el área 17 del ratón y las áreas 18 (medial) y 18 (a) lateral de la corteza periestriada demuestran tras enucleación unilateral un descenso significativo del número de espinas dendríticas en los tallos apicales de las neuronas piramidales de la capa V del área 18 (a) ipsilate-

ral al ojo enucleado y a nivel de la capa III. Este efecto que ellos encuentran a los 48 días pero no antes, nos hace pensar en la posibilidad mencionada de una posterior extensión de la alteración hacia la misma capa del área visual primaria. En este sentido es importante considerar que COLONNIER y ROSSIGNOL (1969) mostraron anatómicamente proyección intracortical homolateral entre el área 18 y las áreas 17 y 19 del gato, siendo las capas afectadas las su pragranulares. WILSON (1968) mediante el método de NAUTA demuestra, también en gato, conexiones entre las áreas 18 y 19 y el área 17 del mismo lado, siendo la capa III la más afectada por la degeneración.

Nos encontramos, otra vez con que no hay una sola causa que pueda explicar el fenómeno observado. Tanto la primera causa postulada de efecto por decremento de la vía óptica primaria tras la enucleación; como las dos hipótesis de un efecto interhemisférico con mediación del cuerpo calloso parecen verosímiles en parte y es posible que las tres intervengan en el proceso quizá con distinta intensidad según el momento del desarrollo considerado.

Vamos a considerar este aspecto conjuntamente con algunas con sideraciones sobre el circuito que puede constituirse entre las aferencias callosas y las neuronas piramidales estudiadas.

Es un hecho comprobado para distintas áreas corticales de la rata que la maduración y desarrollo de las conexiones callosas es muy lenta. La penetración de los axones callosos a nivel de la cor teza está retrasada hasta el tercer día postnatal (WISE y JONES, 1976) y un patrón de distribución laminar no se consigue hasta la segunda semana (WISE y JONES 1976; WOLFF, 1976-1978).

La adquisición de sinapsis comisurales parece postergarse hasta un grado importante de maduración en las neuronas originarias de los axones callosos (WISE y JONES, 1976) y como hemos visto, por lo menos en las piramidales, este se alcanza bastante tarde. Por lo tanto esta cronología tardía en la sinaptología de las fibras comisurales callosas está de acuerdo con que si el efecto observado por nosotros se realiza a través de estas su manifestación sea también tardía.

Según el trabajo de GLOBUS y SCHEIBEL (1967) las aferencias callosas contactarían selectivamente sobre las ramas oblicuas de las neuronas piramidales de la capa V no afectando a las apicales ni a la radiación basal. Según estos autores, además, la degeneración producida por Sección del Cuerpo Caloso se dejaba sentir en un descenso de espinas dendríticas en las dendritas oblicuas a los 30 días de edad.

Partiendo de estos supuestos e intentando una implicación más clara del cuerpo caloso en el cruce del efecto de la enucleación observado por nosotros, estudiamos el número de espinas/micra a nivel de las ramas oblicuas de las células piramidales del hemisferio ipsilateral al lado afectado por la enucleación. Como queda expuesto en el apartado III de Resultados, no se encontró diferencia significativa entre los valores de esta variable a los 30 días del lado contralateral e ipsilateral a la enucleación y sí a los 80 días de acuerdo con lo encontrado en la dendrita apical. Este resultado confirma la intervención del cuerpo caloso en la propagación del efecto de la enucleación entre un hemisferio y el otro.

La posibilidad de una diferencia cronológica en la formación de sinapsis según las diferentes estructuras dendríticas de las neuronas piramidales, suscitada por el trabajo de GLOBUS y SCHEIBEL (1967), no se ve favorecida por nuestros resultados ya que en periodos de desarrollo más tempranos tampoco se observa efecto sobre las dendritas oblicuas. Del mismo modo y de acuerdo con SZENTAGOTHAÏ (1976) puede afirmarse que las neuronas piramidales profundas reciben aferencias callosas en sus dendritas apicales y no sólo en las oblicuas como postulaban GLOBUS y SCHEIBEL (1967).

En cuanto a si las aferencias callosas sinaptan directamente ó no sobre los tallos apicales hay que considerar siguiendo a SZENTAGOTHAÏ (1973) que la ramificación de las fibras aferentes comisurales parece favorecer poco a la afectación de elementos dendríticos verticales siendo más probable la formación de sinapsis con elementos dendríticos oblicuos. Este mismo autor apunta la posibilidad de una intervención de interneuronas de las capas III y II que proyectarán sus axones hacia los elementos dendríticos verticales. La intercalación de estas neuronas aumentará la complejidad del circuito formado haciendo más lenta su formación debido a la más tardía maduración de las microneuronas especialmente las de las capas más superficiales (JACOBSON, 1974).

Las consecuencias funcionales y comportamentales de todo lo dicho anteriormente pueden ser muy profundas ya que el efecto de la privación monocular se generaliza de forma irreversible en los dos hemisferios visuales y a nivel de la capa III, la cual junto con la II y la I juegan un papel muy importante en cuanto a los procesos de elaboración de la información recibida (JACOBSON, 1974).

El Cuerpo Calloso tiene un papel relevante en lo que se refiere a la integración de la información visual y transferencia interhemisférica de patrones de discriminación visual. SPERRY (1968), GAZZANIGA (1970) y BERLUCCHI (1972), RUSSEL y MORGAN (1979). Una deficiencia en estas funciones integrativas puede determinar que la deprivación de un sólo ojo acarree graves deficiencias de orden comportamental. En este sentido se ha demostrado en animales monocularmente deprivados menos habilidad para discriminación de formas, ausencia de transferencia interhemisférica de tareas de discriminación aprendida y en suma una deficiencia general en su comportamiento visual (RIESEN, 1961; GANZ y FITCH, 1968; DEWS y WIESEL, 1970; CHOW y STEWART, 1972 y GANZ, 1978).

IV.- DISTRIBUCION DE ESPINAS DENDRITICAS. DETERMINACION INTRINSECA DE LA SINAPTOGENESIS CEREBRAL. PLAN GENERAL DE DISTRIBUCION DE ESPINAS.

Hemos visto que la distribución de espinas dendríticas a lo largo de los tallos apicales de las neuronas piramidales de la capa V del área 17 de la corteza visual de la rata, sigue una ley dada por la ecuación fundamental del Modelo Matemático descrito por RUIZ MARCOS y VALVERDE (1969). El ajuste se mantiene a lo largo del período de desarrollo estudiado y no se altera sustancialmente con la enucleación monocular y binocular. Por lo tanto los procesos de formación de espinas estudiados, lo mismo que las etapas de estabilización y disminución transitoria, transcurren de acuerdo con el

plan acorde con la distribución dada por el Modelo Matemático mencionado. Esto lleva a pensar en una fuerte determinación intrínseca de origen genético en el proceso de formación de las espinas dendríticas, la cual se manifestaba también, como ya hemos visto, en el patrón básico de producción de las mismas.

Hay una serie de consideraciones que apoyan estas afirmaciones: En primer lugar el cumplimiento generalizado del Modelo Matemático en lo referente al modo de distribución de las espinas en todos los mamíferos estudiados: ratón, hamster, mono y hombre (VALVERDE y RUIZ MARCOS, 1969).

En segundo lugar, el cumplimiento de la distribución de espinas dado por el modelo en áreas corticales de diferente significado, como son el área motora, somatosensorial y auditiva además de la visual (RUIZ MARCOS y SALA, comunicación personal).

El hecho de que la constitución estructural de estas áreas de corteza cerebral sea bastante diferente, como han demostrado FLEISCHAUER y DETZER, (1975), indica una cierta independencia de la formación de espinas dendríticas frente a la trama axonal circundante. Esto fue ya constatado por RUIZ MARCOS y VALVERDE (1969) al comprobar que la ley de distribución de espinas dendríticas impuesta por el Modelo Matemático se cumplía tanto en las neuronas piramidales de la capa III y V, como en las piramidales invertidas cuyos tallos apicales atraviesan capas corticales de conectividad muy diferente.

Del mismo modo VAN DER LOOS (1965) ya había observado que estas mismas neuronas piramidales invertidas poseían un campo dendrítico de patrón de ramificación normal. De acuerdo con VRENSEN y DE GROOT (1974), los cuales tras estudiar mediante microscopía electrónica la densidad de sinapsis en el espesor cortical del conejo,

señalan dos máximos de la misma: uno hacia la capa II y otro localizado en la V, podemos así mismo afirmar que no hay una relación entre mayor cantidad de espinas dendríticas y mayor densidad sináptica de la capa. El máximo observado en la capa IV, de acuerdo con la distribución de espinas dada por la ecuación fundamental del Modelo Matemático se corresponde precisamente con un descenso de conectividad sináptica a este nivel (VRENSEN y DE GROOT, 1974).

Otros estudios como los de CRAGG (1972) en gatos, MOLLIVER y VAN DER LOOS (1970) en perros, MOLLIVER y col. (1973) en el hombre, coinciden en señalar picos de densidad sináptica en la corteza cerebral que no se corresponden con los máximos de espinas dendríticas de las neuronas piramidales.

Un patrón correcto de laminación de la corteza no es tampoco esencial para el desarrollo de una conectividad sináptica normal en sus neuronas como lo demuestran los estudios de CAVINESS y SIDMAN (1972-1973) y DEVOR y col. (1975) en el mutante "Reeler" del ratón. Por otro lado en estudios de cultivo de tejidos (por ejemplo, BUNGE, 1973 b) se encuentra un desarrollo normal del campo dendrítico de las neuronas lo cual exige una fuerte determinación intrínseca de este carácter.

Por lo tanto, las ideas de FOX y MASSOPUST (1973), SHOLL (1956), FOX y BARNARD (1957) y COLONNIER (1964) de que el número de contactos sinápticos de una neurona en un área determinada depende del número de axones circundantes con lo cual la formación de las mismas sería realizada al azar (UTTLEY, 1955) deben ser rebatidas a la luz de nuestros resultados.

Hay que pensar pues en la existencia de un fuerte determinismo genético en el proceso mencionado que puede ser modulado en mayor o menor grado por el entorno ambiental.

Esta dualidad de factores determinantes del desarrollo neuronal, intrínsecos por una parte y extrínsecos por otra, ha sido repetidamente puesta de manifiesto tanto en estudios estructurales (ROSENZWEIG y col., 1962; DIAMOND y col., 1964, 1966, 1967; HOLLOWAY, 1966; GLOBUS y col., 1973; GREENOUGH y col., 1973; GREENOUGH y WOLKMAR, 1973, etc...) como electrofisiológicos (HUBEL y WIESEL, 1963 a y b; BLAKEMORE, 1974 y PETTIGREW, 1974).

La importancia relativa de ambos tipos de factores determinantes no es la misma para las diferentes neuronas. ALTMAN (1967) y JACOBSON (1974) afirman de un modo general que las macroneuronas tienen un componente genético en su desarrollo muy superior al de las microneuronas, las cuales al diferenciarse más tardíamente (ver cap. 2), están sometidas a una mayor influencia ambiental, coincidiendo su maduración con la adquisición del repertorio adaptativo comportamental del animal. JACOBSON (1978) establece que la macroneurona es el centro rector del establecimiento de conexiones relacionadas con ella y esta función la lleva a cabo dentro de patrones de diferenciación determinados muy rigidamente.

Todas las observaciones realizadas por nosotros en el presente trabajo coinciden en resaltar este fuerte componente intrínseco en el desarrollo de contactos sinápticos de las neuronas piramidales de la capa V, las cuales por su carácter de macroneuronas de muy temprana diferenciación (sólo son precedidas por las células de

CAJAL-RETZIUS según MARIN PADILLA (1970)) no sufren alteraciones substanciales, frente a la enucleación en lo que respecta a la formación de contactos sinápticos.

Al tratar del determinismo genético en el desarrollo de las neuronas piramidales de la capa V, al igual que de otras macroneuronas tales como las células PURKINJE del cerebelo conviene repasar estos dos elementos estructurales: a) constitución del campo dendrítico y b) formación de espinas dendríticas o contactos sinápticos.

El campo dendrítico, en líneas generales, está en estas neuronas bajo control genético modulado por el número y especie de axones que se desarrollan en el mismo (HOLLINGWORTH y BERRY, 1975). La influencia externa es distinta según el tipo de dendrita considerado. Así en las células piramidales la dendrita apical es la que se desarrolla primero y bajo mayor determinación intrínseca quedando determinada su dirección por la orientación inicial del soma después de que el proceso de emigración haya cesado (BERRY y EAYRS, 1966). En las dendritas basales las ramas primarias son menos influenciadas por el medio externo que las secundarias y terciarias (COLEMAN y RIESEN, 1968) siendo las dendritas colaterales que emergen del tallo apical las últimas en formarse y las de menor componente intrínseco en su desarrollo (HOLLINGWORTH y BERRY, 1975).

Basándose en los estudios anteriormente citados y en los realizados sobre el desarrollo de neuronas de PURKINJE en cerebelo de ratones mutantes "Weaver" y "Staggerer" por BRADLEY y BERRY (1978),

BERRY, BRADLEY y BORGES postulan en este mismo año su hipótesis sobre el establecimiento de conexiones neuronales anunciada de la

siguiente manera "la expresión genética está confinada al desarrollo de puntos sinápticos en la membrana neuronal, mientras que el tamaño del árbol dendrítico (número y longitud de segmentos) así como su orientación y tipología están más o menos modulados por la trama axónica situada dentro del campo dendrítico considerado".

Vamos a tratar seguidamente de la primera parte de la hipótesis enunciada y que se refiere al determinismo totalmente intrínseco de la formación de sinapsis por parte de la membrana, ya que el parámetro estudiado por nosotros, las espinas dendríticas, está íntimamente relacionado con el mismo.

Los estudios de las células de PURKINJE ya mencionados así como otros debidos a LLINAS y col. (1973) y SOTELO (1973, 1975 b, 1978) demuestran que la frecuencia de espinas por área de tallo dendrítico se mantiene constante y es independiente de la llegada de fibras aferentes a estas células. En las neuronas piramidales, sin embargo, podríamos distinguir de acuerdo con VALVERDE (1971) dos poblaciones de espinas dendríticas: la desarrollada bajo estricto control genético y la dependiente de estimulación ambiental mediante un proceso de inducción. Tres tipos distintos de inducción son concebidos para explicar los efectos de la deprivación visual sobre el desarrollo de las espinas dendríticas:

- a) Inducción directa por parte de las aferencias específicas visuales (GLOBUS y SCHEIBEL, 1967 b; SCHAPIRO y VUKOVICH, 1970 y JONES y POWELL, 1970).
- b) Inducción indirecta, es decir, mediante la intervención de interneuronas cuyos axones determinarían la formación de las espinas

dendríticas (VALVERDE y RUIZ MARCOS, 1969).

- c) Inducción heterotópica. HAMORI (1973) postula la hipótesis de que el desarrollo y mantenimiento de las espinas dendríticas de los tallos apicales de las neuronas piramidales puede depender de la estimulación de la ramificación dendrítica basal de estas neuronas por parte de las aferencias específicas.

Esta inducción "a distancia" ha sido comprobada por HAMORI (1973) en el desarrollo de las espinas de las dendritas terciarias de las células de PURKINJE del cerebelo el cual depende de las fibras "trepadoras" las cuales no establecen sinapsis directamente con dichas espinas. La comprobación de la hipótesis en las neuronas piramidales de la corteza cerebral no es posible debido a la enorme cantidad de aferencias de diferentes tipos (Intra corticales, interhemisféricas, etc...) que les llegan a estas células.

La idea de una inducción heterotópica en la formación de las espinas a lo largo de la dendrita apical es coherente con el hecho de que las alteraciones se establezcan globalmente y siguiendo unas ciertas leyes intrínsecamente determinadas. No obstante, las diferencias de comportamiento de las distintas capas, en correspondencia con sus peculiaridades en la conectividad tal y como hemos mostrado anteriormente, no están de acuerdo con la respuesta global postulada por HAMORI. Por otro lado, la escasísima densidad de terminaciones geniculoesstriadas a nivel de la capa VI, que afectarían a las dendritas basales de las piramidales de la capa V (PETERS y FELDMAN, 1976) no es suficiente como para pensar en una potente in

ducción de espinas en el tallo apical que fuera capaz, por otra parte, de solapar el efecto directo de la trama axonal de la capa IV. No obstante puede suponerse un papel básico de la inducción heterotópica en la formación de espinas dendríticas en las dendritas apicales.

Frente a estas teorías que explican la formación de un cierto número de espinas por inducción, está la enunciada por LARRAMENDI y VICTOR (1966, 1967); LARRAMENDI (1969) y BERRY y BRADLEY (1976) de que todas las espinas dendríticas están genéticamente determinadas.

El fuerte determinismo intrínseco puesto de manifiesto por nuestros resultados, tanto en lo que se refiere al patrón de desarrollo de espinas dendríticas como a la ley de distribución de las mismas a lo largo de los tallos apicales, nos ha llevado a intentar una interpretación de tales datos atendiendo a los postulados de la teoría de la conectividad de BERRY y col. (1978) expuesta anteriormente.

Según ella el número de espinas dendríticas por unidad de longitud de tallo apical debía permanecer inalterado independientemente del medio externo circundante y del mayor o menor número de axones que pudieran llevar a cabo la estimulación de la misma. En el trabajo de FREIRE (1978), al que ya nos hemos referido anteriormente, queda constatado que frente a una situación de deprivación visual el desarrollo de las espinas dendríticas está frenado, encontrándose mayor número de espinas en los estadios 1 y 2 de menor desarrollo y menor número de espinas en el estadio 3. No obstante, el número total de espinas encontrado no varía.

El hecho de que las espinas dendríticas en estado 1 y 2 no sean visibles al microscopio óptico explicaría el descenso encontrado en los contajes realizados en animales deprivados y enucleados. Dicho descenso no indicaría falta de formación de espinas o menor diferenciación de puntos postsinápticos por parte de la membrana si no deficiente desarrollo de las mismas ocasionado por la falta de estímulo recibido por los axones aferentes.

Según esta interpretación se podría decir que la distribución de espinas dendríticas a lo largo del tallo apical de las neuronas piramidales de la capa V viene determinada de un modo intrínseco y genético por parte de la membrana celular, dependiendo su mayor o menor expresión del entorno ambiental de la célula.

Se podría afirmar además que la ecuación fundamental del Modelo Matemático de RUIZ MARCOS y VALVERDE es la expresión de este determinismo genético en lo que se refiere a la distribución de espinas dendríticas en los tallos apicales de las neuronas piramidales.

Frente a esta interpretación estarían las ya mencionadas de inducción directa, indirecta o heterotópica. En cualquier caso para la adopción categórica de una cualquiera de ellas sería necesario un mayor aporte experimental.

Es lógico pensar que la distribución dada por la ecuación fundamental del Modelo Matemático se corresponde con una situación de máxima eficacia funcional en la sinaptología de estas neuronas. El significado funcional de las espinas dendríticas es una cuestión bastante poco tratada en la literatura. RAMON y CAJAL (1911) sostien

ne que son estructuras destinadas a aumentar la superficie receptiva pero esta interpretación es excesivamente simplista. CHANG (1952) les da el papel de modulación o atenuación del potencial postsináptico mientras que PETERS y KAISERMAN-ABRAMOF (1970) las conciben como estructuras activas destinadas al alcanzar a los axones que circundan a las dendritas.

DIAMOND y col. (1970) afirman que "la espina dendrítica proporciona un punto postsináptico verdaderamente aislado de otras sinápsis de la neurona, de tal manera que los impulsos presinápticos llegan con poca o ninguna interferencia por parte de la actividad generada en otros lugares de la célula. La actividad generada en la espina cuando es transmitida a la dendrita matriz puede ir ya de alguna manera procesada y puede sumarse posteriormente con otras respuestas contribuyendo mejor a la integración dendrítica".

La perfecta integración funcional de la información visual procesada por las neuronas piramidales del área 17 depende pues del cumplimiento del Modelo Matemático en lo que se refiere a la distribución de espinas dendríticas. Ya hemos visto que la enucleación monocular no la altera en ninguno de los dos hemisferios. La binocular produce desviaciones transitorias de la distribución normal localizadas preferentemente en los periodos de estabilización de la formación de espinas dendríticas, lo cual puede estar relacionado con anomalías profundas en los procesos de selección de conexiones neuronales.

La no alteración de la expresión del componente intrínseco dado por el Modelo Matemático tras situaciones diversas de privación visual (VALVERDE y RUIZ MARCOS, 1969) contrasta con los profun-

dos efectos de un desequilibrio hormonal como el hipotiroidismo produce en la distribución de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la rata (SANCHEZ-TOSCANO y col. 1977; RUIZ MARCOS y col., 1979).

Este hecho se corresponde con las profundas alteraciones de tipo funcional y comportamental que muestran los animales hipotiroideos desde estados muy tempranos en el desarrollo y que en el hombre constituyen el cretinismo congénito. Tales alteraciones estarán motivadas, entre otras muchas cosas, por la deficiente integración funcional llevada a cabo por las neuronas piramidales de la corteza cerebral de estos individuos.

La utilidad del modelo matemático como instrumento de estudio de los efectos que una determinada situación experimental ejerce sobre el desarrollo de la Corteza Cerebral ha sido oportunamente puesta de manifiesto por sus autores (RUIZ MARCOS y VALVERDE, 1969; VALVERDE y RUIZ MARCOS, 1969). A través de los valores de los coeficientes B, IF y del cociente B/IF que se correlacionan bien como hemos visto en nuestro estudio con las variaciones en el número de espinas dendríticas, puede lograrse una medida de una determinada alteración en la sinaptología cortical.

Nosotros en este trabajo hemos considerado además la posibilidad de que la ecuación fundamental del Modelo Matemático sea la expresión del determinismo genético de las neuronas piramidales en lo que se refiere a la distribución de espinas dendríticas a lo largo de sus tallos apicales.

144

RESUMEN Y CONCLUSIONES

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se han estudiado, cuantitativamente, los efectos producidos por la enucleación monocular y binocular sobre el desarrollo de Espinas Dendríticas en los Tallos Apicales de las Neuronas Piramidales de la Corteza Visual Primaria de la rata, utilizando dicha variable como indicadora de la sinaptología de la misma. Mediante la situación experimental creada por la enucleación, consistente en la degeneración de la vía óptica primaria, se ha tratado además de delimitar el componente intrínseco-ambiental del desarrollo de Espinas Dendríticas, tanto en lo referente a su número como a su distribución.

Para ello se han utilizado ratas de raza Wistar las cuales eran enucleadas al día siguiente de nacer sacrificándose a diferentes edades a lo largo de los tres primeros meses de vida del animal. Trás la perfusión las regiones occipitales de Cerebro eran teñidas mediante el método rápido de GOLGI. Las espinas se contaron a lo largo de los Tallos Apicales de las Neuronas Piramidales de la capa V en segmentos de 50 en 50 μ a partir del soma celular. Los datos, obtenidos de este modo, eran suministrados a un ordenador PDP 11-40 para su posterior procesamiento con una serie de programas FORTRAM realizados en el Departamento de Biofísica del Instituto Cajal del C.S.I.C.

Se han considerado, en el estudio, tres partes según la variable considerada: 1) Evolución del Número de Espinas Dendríticas por Tallo Apical completo. 2) Número de Espinas Dendríticas/segmento a nivel de las capas IV y III de la Corteza Visual y 3) Estudio de la

distribución de Espinas a lo largo de las Dendritas Apicales mediante el uso del Modelo Matemático de RUIZ MARCOS y VALVERDE (1969).

Los resultados obtenidos pueden resumirse así:

1) Existe un patrón fijo en el desarrollo del Número de Espinas Dendríticas que se cumple tanto a nivel del Tallo Apical completo como a nivel de las capas corticales IV y III. Consta básicamente de dos periodos de crecimiento separados por una fase transitoria de detención del desarrollo con retroceso del Número de Espinas en algunos casos.

2) Dicho patrón no es alterado con la enucleación monocular ni binocular apareciendo, eso sí, variaciones cuantitativas en la intensidad de los procesos cuando se considera el desarrollo de las espinas según las capas corticales.

Así a nivel de la capa IV la enucleación monocular hace disminuir la intensidad del primer periodo de formación de espinas en el hemisferio contralateral al ojo enucleado (lado afectado) determinando diferencias significativas de ésta variable respecto a los controles, las cuales son compensadas, posteriormente, mediante un proceso de recuperación tardío.

A nivel de la capa III la enucleación monocular no sólo afecta al desarrollo sináptico del hemisferio contralateral sino también al ipsilateral, a través de una menor intensidad del segundo periodo de formación de espinas en lo que hemos llamado "cruce del efecto de la enucleación". Estos efectos, que demuestran la individualidad de las capas, se intentan explicar en base a la diferente conectividad de las mismas.

3) La ley de distribución de las Espinas Dendríticas a lo largo de los Tallos Apicales de las Neuronas Piramidales, definida por la ecuación fundamental del Modelo Matemático de RUIZ MARCOS y VALVERDE (1969) sigue cumpliéndose tras la enucleación monocular no produciéndose desajustes entre las distribuciones experimentales y las teóricas impuestas por el Modelo.

La enucleación binocular determina pequeñas desviaciones en la ley de distribución a algunas edades del periodo estudiado.

4) La evolución de los parámetros B, IF, K y B/F del Modelo Matemático se corresponde con la evolución del Número de Espinas, de manera que los cambios sufridos por estos parámetros tras la enucleación proporcionan una medida del efecto de la misma sobre la sinaptología cerebral.

De la existencia de estos patrones o "leyes" en la evolución del Número de Espinas Dendríticas así como en su Distribución, los cuales, como se ha visto, no son alterados por la enucleación puede concluirse que hay un fuerte determinismo intrínseco de origen genético en el desarrollo de estas estructuras de recepción sináptica, el cual sin embargo es modulado cuantitativamente por la llegada de impulsos del medio exterior.

148

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento:

- Al Dr. D. Antonio Ruiz Marcos, Investigador Científico y Jefe del Departamento de Biofísica del Instituto Cajal del C.S.I.C. por la dirección del presente trabajo.
- Al Dr. D. Alfredo Carrato Ibañez, Director del Instituto Cajal del C.S.I.C. por haber tenido la amabilidad de aceptar la ponencia de esta Tesis.
- Al Dr. D. Antonio Fernandez de Molina y Cañas, Catedrático de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca por la ayuda prestada mientras era director del Departamento de Biofísica.
- A las Dras. Alvarez y Santana, por su estímulo.
- A todo el equipo del Departamento de Biofísica por su colaboración y especialmente a Maria del Carmen Vidal por la labor histológica, a Paloma Largadra por las fotografías, a Ester Fernández de Molina por su ayuda en la mecanografía, a M^a Concepción Gabriel por el trabajo de computador y a Cipriano García por su valiosa ayuda en lo relativo al manejo de los animales y labores de taller.
- A M.Nieves García por el esfuerzo realizado para la rápida mecanografía de esta Tesis.
- A mi querido compañero y amigo José Sala por su constante apoyo y estímulo.
- Por último, mi más profundo agradecimiento a Conchita, mi mujer por su ayuda material y moral en todos los momentos.

Este trabajo ha sido posible gracias a una subvención económica del Plan de Formación de Personal Investigador del Ministerio de Educación y Ciencia.

BIBLIOGRAFIA

II

BIBLIOGRAFIA

- AGHAJANIAN, G.K., y BLOOM, F.E. (1967). The formation of synaptic junctions in developing rat brain: A quantitative microscopic study. Brain. Res. 6: 716-727.
- ALTMAN, J. (1966). Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. II A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in infant rats, with special reference to postnatal in some brain regions. J. Comp. Neurol. 128: 431-474.
- ALTMAN, J. (1967). Postnatal growth and differentiation of the mammalian brain, with implications for a morphological theory of memory. En Neurosciences: A study Program. (Edit. por G. Quarton, T. Melnechuk and Schmitt), Rockefeller University Press. New York.
- ALTMAN, J. y DAS, G.D. (1966). Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. I. J. Comp. Neurol. 126: 337-390.
- ARDUINI, A. (1963). The tonic discharge of the Retina and its central effects. Progr. Brain Res. 1: 184-203.
- BALAZS, R. (1977). Effect of Thyroid Hormone and undernutrition on cell acquisition in the Rat brain. En Thyroid Hormones and Brain development. (Edit. por Grave, G.D. Raven Press. New York.
- BENNETT, E.L., DIAMOND, M.C., KRECH, D. y ROSENZWEIG, H.R. (1964). Chemical and anatomical plasticity of Brain. Science 146: 610-619.

101

III

- BERLUCCHI, G. (1972). Anatomical and physiological aspects of visual functions of Corpus Callosum. Brain Res. 37: 371-392.
- BERLUCCHI, G., GAZZANIGA, M.S. y RIZZOLATTI, G. (1967). Microelectrode analysis of transfer of visual information by the Corpus Callosum. Arch. Ital. Biol. 105: 583-596.
- BERGER, H. (1900). Experimental anatomische Studien über die durch den Mangel optischer Reize veranlasseten Entwicklungshemmungen im Occipitallappen des Hundes und der Katze. Arch. Psychiat. Nervenkr. 33: 521-567.
- BERRY, M. (1976). Plasticity in the Visual System and visually guided behaviour. En Advances in Psychohistology, Vol. III. (Ed. por A.H. Riesen y R.F. Thompson). JOHN WILEY. NEW YORK. pgs: 125-192.
- BERRY, M. y BRADLEY, P. (1976). The application of network analysis to the study of branching patterns of large dendritic fields. Brain Res. 109: 11-132.
- BERRY, M. y EAYRS, J.T. (1966). The effects of x-irradiation on the development of the Cerebral Cortex. J. Anat. (Lond.), 100: 707-722.
- BERRY, M. y ROGERS, A.W. (1965). The migration of neuroblasts in the developing Cerebral Cortex. J. Anat. (Lond.) 99: 691-709.
- BERRY, M., ROGERS, A.W. y EAYRS, J.T. (1964 a). Pattern of cell migration during cortical histogenesis. Nature 203: 591-593.

IV

- BERRY, M., ROGERS, A.W. y EAYRS, J.T. (1964 b). The pattern and mechanism of migration of the neuroblasts of the developing Cerebral Cortex. J. Anat. (Lond.). 98: 291-292.
- BERRY, M., BRADLEY, P. y BORGES, S. (1978). Environmental and genetic determinants of connectivity in the Central Nervous System - An approach through dendritic field analysis. En Maturation of the Nervous System, Progress in Brain Res. Vol. 48 (Ed. por M.A. Corner, R.E. Baker, N.E. Van de Pol, D.F. Swaab y H.B.H. Uylings). Elsevier, Amsterdam. Pgs. 133-168.
- BLACKSTAD, T.W. (1965). Mapping of experimental axon degeneration by electron microscopy of Golgi preparations. Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat. 67: 819-834.
- BLAKEMORE, C. (1974). Development of functional connexions in the mammalian Visual System. Br. Med. Bull. 30: 152-157.
- BOK, S.T. (1936). The branching of the dendrites in the Cerebral Cortex. Proc. Acad. Sci. Amst. 39: 1209-1218,
- BOK, S.T. (1959). Histonomy of the Cerebral Cortex. Elsevier. Amsterdam.
- BORGES, S. y BERRY, M. (1976). Preferential orientation of stellate cell dendrites in the Visual Cortex of the dark-reared rat. Brain Res. 109: 133-151.
- BRADLEY, P. y BERRY, M. (1978). Development of Purkinje cells in the murine mutants "weaver" and "staggerer". Brain Res. 142:135-141.
- BUNGE, M.B. (1973) Fine structure of nerve fibers and growth co-

- nes of isolated sympathetic neurons in culture. J. Cell. Biol. 56: 713-735.
- CARLSON, A.J. (1902). Changes in the Nissl's substance of the ganglion and the bipolar cells of the retina of the Brandt Cormorant Phalacrocorax penicillatus during prolonged normal stimulation. Amer. J. Anat. 2: 341-347.
- CAVINESS, V.S., Jr. y SIDMAN, R.L. (1972). Olfactory structures of the forebrain in the reeler mutant mouse. J. Comp. Neurol. 145: 85-104.
- CAVINESS, V.S., Jr. y SIDMAN, R.L. (1973). Time of origin or corresponding cell classes in the cerebral cortex of normal and reeler mutant mice: An autoradiographic analysis. J. Comp. Neurol. 148: 141-152.
- CHANG, H.T. (1952). Cortical neurons with particular reference to the apical dendrites. Cold. Spring Harbour Symp. Quant. Biol. 17: 189-202.
- CHANG, H.T. (1953). Cortical response to activity of callosal neurons. J. Neurophysiol. 3: 117-131.
- CHOW, K.L. (1973). Neuronal Changes in the Visual System following visual deprivation. En Handbook of Sensory Physiol. VII/3 (Edit. por R. Jung). Springer-Verlag. Berlin. Pgs. 598-627.
- CHOW, K.L. y STEWART, D.L. (1972). Reversal of Structural and functional effects of long-term visual deprivation in cats. Exp. Neurol. 34: 409-433.

VI

- COLEMAN, P.D. y RIESEN, A.H. (1968). Environmental effects on cortical dendritic fields. I. Rearing in the dark. J. Anat. (Lond.) 102: 363-374.
- COLONNIER, M. (1964). Experimental degeneration in the Cerebral Cortex. J. Anat. 98: 47-53.
- COLONNIER, M. (1966). The structural design of the neocortex. En Brain and Conscious Experience (Edit. por J.C. Eccles). Springer-Verlag, Berlin, Pgs. 1-23.
- COLONNIER, M. (1968). Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat Visual Cortex. An electron microscope study. Brain Res. 9: 268-287.
- COLONNIER, M. y ROSSIGNOL, S. (1969). Heterogeneity of the Cerebral Cortex. En Basic mechanism of the epilepsies. Edit. por H.H. Jasper, A.A. Ward y A. Pope. Little Brown and Co., Boston. Pgs. 29-40.
- COX, W.H. (1891). Imprägnation des centralen nerven system mit quecksilbersalzen. Arch. Mikroskop. Anat. 37: 16-21.
- COWAN, W.M. (1970). Anterograde and retrograde transneuronal degeneration in the central and peripheral nervous system. En Contemporary research methods in neuroanatomy. Ed. por W.J. Nauta y S.O.E. Ebbesson. Springer-Verlag, New York. Pgs. 217-251.
- CRAGG, B.G. (1967). The density of synapses and neurons in the motor and visual areas of the cerebral cortex. J. Anat. 101: 639-654.

- CRAGG, B.G. (1969). The effects of vision and dark-rearing on the size and density of synapses in the lateral geniculate nucleus measured by electron microscopy. Brain Res. 13: 53-67.
- CRAGG, B.G. (1972 a). The development of cortical synapses during starvation in the rat. Brain 95 (1): 143-150.
- CRAGG, B.G. (1972 b). The development of synapses in cat visual cortex. Invest. Ophthalmol. 11: 377-385.
- CRAGG, B.G. (1974). Plasticity of Synapses. Br. Med. Bull. 30(2): 141-144.
- CRAGG, B.G. (1975 a). The development of synapses in kitten visual cortex during deprivation. Exp. Neurol. 46: 445-451.
- CRAGG, B.G. (1975 b). The development of synapses in the visual system of the cat. J. Comp. Neurol. 160: 147-166.
- CUNNINGHAM, T.J. y LUND, R.D. (1971). Laminar patterns in the dorsal division of the Lateral Geniculate Nucleus of the rat. Brain Res. 34: 394-398.
- CURTIS, H.J. (1940). Intercortical connections of Corpus Callosum as indicated by evoked potentials. J. Neurophysiol. 7: 407-413.
- DEVOR, M., CAVINESS, U.S. Jr. y DERER, P. (1975). A normally laminated afferent projection to an abnormally laminated cortex: Some olfactory connections in the reeler mouse. J. Comp. Neurol. 164: 471-482.
- DEWS, P.B. y WIESEL, T.N. (1970). Consequences of monocular depri-

- vation on visual behaviour in kittens. J. Physiol. 206: 437-455.
- DIAMOND, I.T. y HALL, W.E. (1969). Evolution of Neocortex. Science 164: 251-262.
 - DIAMOND, J. y col. (1970). The function of the dendritic spine: an hypothesis. En Excitatory Synaptic Mechanisms. Ed. por P. Andersen y J.R.S. Jansen. Universitets forlaget. Oslo. Pgs. 213-222.
 - DIAMOND, M.C., KRECH, D. y ROSEWZWEIG, M.R. (1964). The effects of enriched environmental on the histology of the rat cerebral cortex. J. Comp. Neurol. 123: 11-120.
 - DIAMOND, M.C., LAW, F., RHODES, H., LINDNER, B., ROSENZWEIG, M.R., KRECH, D. y BENNETT, E.L. (1966). Increases in cortical depth and glia numbers in rats subjected to enriched environment. J. Comp. Neurol. 128: 117-126.
 - DIAMOND, M.C., LINDNER, B. y RAYMOND, A. (1967). Extensive cortical depth measurements and neuron size increases in the cortex of environmentally enriched rats. J. Comp. Neurol. 131: 357-364.
 - DOBBING, J. (1974). The later growth of the brain and its vulnerability. Pediatrics 53: 2-6.
 - DYSON, S.E. y JONES, D.G. (1976). Some effects of undernutrition on synaptic development a quantitative ultrastructural study. Brain Res. 114: 365-378.
 - EAYRS, J.T. y GOODHEAD, B. (1959). Postnatal development of the cerebral cortex in the rat. J. Anat. (Lond.) 93: 385-402.

- EBNER, F.B. y MYERS, R.E. (1965). Distribution of corpus callosum and anterior commissure in cat and raccon. J. Comp. Neurol., 124: 353-375.
- FAIREN, A., PETERS, A. y SALDANHA, J. (1977). A new procedure for examining Golgi impregnated neurons by light and electron microscopy. J. of Neurocytology. 6, 311-337.
- FIFKOVA, E. (1967). The influence of unilateral visual deprivation on optic centres. Brain Res. 6: 763-766.
- FIFKOVA, E. (1968). Changes in the visual cortex of rats after unilateral deprivation. Nature 220: 379-381.
- FIFKOVA, E. (1970 a). The effects of monocular deprivation on the synaptic contacts of the visual cortex. J. Neurobiol. 1: 285-294.
- FIFKOVA, E. (1970 b). The effects of unilateral deprivation of visual centers in rats. J. Comp. Neurol. 140 : 431-438.
- FIFKOVA, E. y HASSLER, R. (1969). Quantitative morphological changes in visual centers in rats after unilateral deprivation. J. Comp. Neurol. 135: 167-178.
- FINK, R.P. y HEIMER, L. (1967) Two methods for selective silver impregnation of degenerating axons and their synaptic endings in the Central Nervous System. Brain Res. 4: 369-374.
- FLEISCHHAUER, K. y DETZER, K. (1975). Dendritic Bundling in the Cerebral Cortex. En Advances in Neurobiology Vol. 12. Ed. por G.W. Kreutzberg. Raven Press. New York. Pgs. 71-89.

- FOX, C.A. y BARNARD, J.W. (1957) A quantitative study of Purkinje cell dendritic branchlets and their relationship to afferent fibers. J. Anat. 91: 299-313.
- FREIRE, M. (1978). Effects of dark-rearing on dendritic spines in layer IV of the mouse visual cortex. A quantitative electron microscopical study. J. Anat. 126 (1): 193-201.
- GANZ, L. (1978). Innate and environmental factors in the development of visual form perception. En Perception. Handbook of Sensory Physiol. Vol. VIII. Ed. por R. Held, H.W. Leibowitz y H.L. Teuber. Springer-Verlag, Berlin. Pgs. 437-488.
- GANZ, L. y FITCH, M. (1968). The effect of visual deprivation on perceptual behaviour. Exp. Neurol. 22: 638-660.
- GAREY, L.J. (1970). Termination of thalamo-cortical fibers in the visual cortex of the cat and monkey. J. Physiol. 210: 15P-17P.
- GAREY, L.J. (1973). Morphological evidence for plasticity in the visual thalamo-cortical system of the cat. En Exp. Brain Res. Suppl. 1. Ed. por O. Creutzfeldt. Springer-Verlag. Berlin. Pgs. 264-266.
- GAREY, L.J. y PETTIGREW, J.D. (1974). Ultrastructural changes in kitten visual cortex after environmental modification. Brain Res. 66: 165-172.
- GAREY, L.J. y POWELL, T.P.S. (1971). An experimental study of the termination of the lateral geniculate-cortical pathway in the rat and monkey. Proc. Roy. Soc. Series B. 179: 41-63.

- GAREY, L.J., JONES, E.G. y POWELL, T.P.S. (1968). Interrelationships of striate and extrastriate cortex with the primary relay sites of the visual pathway. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 31: 135-157.
- GAROL, H.W. (1942). Cortical origin and distribution of corpus callosum and anterior commissure in the cat. J. Neuropath. exp. Neurol. 1: 422-429.
- GAZZANIGA, M.S. (1970). The bisected Brain. Appleton Century Crofts, New York. Pgs. XII-172.
- GHETTI, B. y WISNIEWSKI, H.M. (1972). On degeneration of terminals in the cat striate cortex. Brain Res. 44: 630-635.
- GLOBUS, A. y SCHEIBEL, A.B. (1966). Loss of dendrite spines as an index of pre-synaptic terminals patterns. Nature, 212: 463-465.
- GLOBUS, A. y SCHEIBEL, A.B. (1967 a). Synaptic loci on visual cortical neurons: The specific afferent radiation. Exp. Neurol. 18: 116-131.
- GLOBUS, A. y SCHEIBEL, A.B. (1967 b). The effect of visual deprivation on cortical neurons: A Golgi study. Exp. Neurol. 19: 331-345.
- GLOBUS, A. y SCHEIBEL, A.B. (1967 c). Synaptic loci on parietal cortical neurons: Terminations of Corpus Callosum fibers. Science, 156: 1127-1129.
- GLOBUS, A., ROSENZWEIG, H.R., BENNETT, E.L. y DIAMOND, M.C. (1973).

- Effects of differential experience on dendritic spine counts in rat cerebral cortex. J. of Comp. Physiol. Psychol. 82: 175-181.
- GOLGI, C. (1903). Opera amnia, istologia normale. IV sulla sostanza grigia del cervello. (Gazzetta Medica Italiana, 1873). Vol. I. Pgs. 91-98. Ulrico Hoepli. Milan.
 - GOODMAN, L. (1932). Effect of total absence of function on the optic system of rabbits. Amer. J. Physiol. 100: 46-63.
 - GRANITT, R. (1955). Receptors and sensory perception. Yale Univ. Press, New Haven.
 - GRAY, E.G. (1959). Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: and electron microscope study. J. Anat. 93: 420-433.
 - GRAY, E.G. y GUILLERY, R.W. (1966). Synaptic morphology in the normal and degenerating nervous system. Int. Rev. Cytol., 19: 111-182.
 - GREENOUGH, W.T. y WOLKMAR, F. (1973). Pattern of dendritic branching in occipital cortex of rats reared in complex environments. Exp. Neurol. 40: 491-504.
 - GREENOUGH, W.T., WOLKMAR, F.K. y JURASKA, J.M. (1973). Effects of rearing complexity on dendritic branching in frontolateral and temporal cortex of the rat. Exp. Neurol. 41: 371-378.
 - GUILLERY, R.W. (1972 a). Binocular competition in the control of geniculate cell growth. J. Comp. Neurol. 144: 117-130.

- GUILLERY, R.W. (1972 b). Experiments to determine whether retinogeniculate axons can form translaminal collateral sprouts in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. J. Comp. Neurol. 146: 407-420.
- GUILLERY, R.W. y STELZNER, D.J. (1970). The differential effects of unilateral lid closure upon the monocular and binocular segments of the dorsal lateral geniculate nucleus in the cat. J. Comp. Neurol. 139: 413-422.
- GYLLENSTEN, L. (1959). Postnatal development of the visual cortex in darkness (mice). Acta morphol. Neerl-scandinav. 2: 331-345.
- GYLLENSTEN, L., MALMFORS, T. y NORRLIN-GRETTVE, M.L. (1965). Effects of visual deprivation in the optic centers of growing and adult mice. J. Comp. Neurol. 124: 149-160.
- GYLLENSTEN, L., MALMFORS, T. y NORRLIN-GRETTVE, M.L. (1967). Visual and non-visual factors in the centripetal stimulation of postnatal growth of the visual centers in mice. J. Comp. Neurol. 131: 549-558.
- HAMORI, J. (1973). The inductive role of presynaptic axons in the development of postsynaptic spines. Brain Res. 62: 337-344.
- HEIMER, L., EBNER, F.F. y NAUTA, W.J.H. A note on the termination of commissural fibers in the neocortex. Brain Res. 5: 171-177.
- HENDRICKSON, A.E. y COWAN, W.M. (1971). Changes in the rate of axoplasmic transport during postnatal development of the rabbits

- optic nerve and tract. Exp. Neurol, 30: 403-422.
- HOLLINGWORTH, T. y BERRY, M. (1975). Network analysis of dendritic fields of pyramidal cells in the neocortex and Purkinje cells in the cerebellum of the rat. Phil. Trans. B. 270: 227-262.
 - HOLLOWAY, R.L.Jr. (1966). Dendritic branching: some preliminary results of training and complexity in rat visual cortex. Brain Res. 2: 393-396.
 - HUBEL, D.H. y WIESEL, T.N. (1959). Receptive fields of single neurons in the cat's striate cortex. J. Physiol. Lond. 148: 574-591.
 - HUBEL, D.H. y WIESEL, T.N. (1962). Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat visual cortex. J. Physiol. 160: 106-154.
 - HUBEL, D.H. y WIESEL, T.N. (1963). Receptive fields of cells in striate cortex of very young, visually inexperienced kittens. J. Neurophysiol. 27: 994-1002.
 - HUBEL, D.H. y WIESEL, T.N. (1965). Binocular interaction in striate cortex of kittens reared with artificial squint. J. Neurophysiol. 28: 1041-1059.
 - HUBEL, D.H., WIESEL, T.N. y LE VAY, S. (1976). Columnar organization of area 17 in normal and monocularly deprived Macaque Monkeys. Exp. Brain. Res. Suppl. 1: 356-361.
 - INNOCENTI, G.M., FIORE, L. y CAMINITI, R. (1977). Exuberant projection into the Corpus Callosum from the Visual Cortex of Newborn

- cats. Neuroscience Letters, 4: 237-242.
- JACOBSON, M. (1974). A plentitude of neurons. En Studies on the Development of Behaviour and the Nervous System. Vol. 2. Ed. por G. Gottlieb. Academic Press, New York.
 - JACOBSON, M. (1978). Developmental neurobiology. Plenum Press. New York y London.
 - JACOBSON, S. (1970). Distribution of commissural axon terminals in the Rat Neocortex. Exp. Neurol. 28: 193-205.
 - JACOBSON, S. (1971). The Laminar contributions to the Callosal System in the albino rat. Anatomical Rec. 169: 346.
 - JONES, E.G. y POWELL, T.P.S. (1969). Morphological Variations in the dendritic spines of the neocortex. Cell. Sci., 5: 509-529.
 - JONES, E.G. y POWELL, T.P.S. (1970). An electron microscopic study of the laminar pattern and mode of termination of the afferent fibre pathways to the somatic sensory cortex. Phil Trans.R. Soc. Series B. 257: 45-62.
 - KALIL, R.E. (1972). Formation of new retino-geniculated connections in kittens after removal of one eye. Anat. Rec. 172: 339-340.
 - KARLSSON, U. (1967). Observations on the postnatal development of neuronal structures in the lateral geniculate nucleus of the rat by electron microscopy. J. Ultrastr. Res. 17: 158-175.
 - KRECH, D., ROSENZWEIG, M.K. y BENNETT, E.L. (1963). Effects of com

- plex environments and blindness on rat brain. Arch. Neurol. 8: 403-412.
- KRIEG, W.J.S. (1946). Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat. A. Topography of the Cortical Areas. J. Comp. Neurol. 84: 221-275.
- LARRAMENDI, L.M.H. (1969). Analysis of synaptogenesis in the cerebellum of the mouse. En Neurobiology of cerebellar evolution and development. Ed. por R. Llinás. American Medical Association. Chicago. Pgs. 803-843.
- LARRAMENDI, L.M.H. y VICTOR, T. (1966). Soma-dendritic gradient of spine resorption in the Purkinje cell of the cerebellum of the mouse during post-natal development. An electron microscopic study. Anat. Rec. 154: 373.
- LARRAMENDI, L.M.H. y VICTOR, T. (1967). Synapses in the Purkinje cell spines in the mouse: an electron microscopic study. Brain Res. 5: 15-30.
- LE VAY, S. (1975). Synaptic patterns in the visual cortex of the cat and monkey. Electron microscopy of Golgi preparations. J. Comp. Neurol. 150: 53-86.
- LEVICK, W.R. y WILLIAMS, W.O. (1964). Maintained activity of lateral geniculate neurons in darkness. J. Physiol. 170: 582-597.
- LINDNER, I. y UMRATH, K. (1955). Veränderungen der Sehsphäre I und II in ihrem monokularen and binokularen teil nach extirpation eines anges beim kaninchen. Deutsche Z. Nervenheilkunde, 172: 495-525.

- LORENTE DE NO, R. (1922). La Corteza Cerebral del Ratón. Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid. 20: 41-78.
- LORENTE DE NO, R. (1933). Studies on the structure of cerebral cortex. J. Psychol. Neurol. (Leipzig) 45: 381-438.
- LORENTE DE NO, R. (1949). Cerebral cortex: architecture, intracortical connections, motor projections. En Physiology of the Nervous System. Ed. por J.F. Fulton. University Press, New York-Oxford.
- LUND, J.S. y LUND, R.D. (1970). The termination of callosal fibers in the paraviscual Cortex of the rat. Brain Res. 17: 25-45.
- LUND, R.D. (1976). The development of laminar connections in the mammalian Visual Cortex. En Exp. Brain Res. Suppl. 1. Ed. por O. Crentzfeldt. Springer-Verlag. Berlin. Pgs. 255-258.
- LUND, R.D. y CUNNINGHAM, T.J. (1972). Aspects of synaptic and laminar organization of the Mammalian Lateral Geniculate Body. Invest. Ophthal. 11: 291-302.
- LUND, R.D., CUNNINGHAM, T.J. y LUND, J.S. (1973). Modified optic projections after unilateral eye removal in young rats. Brain Behav. Evol. 8: 51-72.
- LLINAS, R., HILLMAN, D.E. y PRECHT, W. (1973). Neuronal circuit reorganization in mammalian Agranular Cortex. J. Neurobiol. 4: 69-74.
- MAKAROW, F.N. (1968-69). Commissural connections of the cat Visual

- Cortex (Areas 17, 18 and 19). Neurosci. Transl. 7: 785-790.
- MARIN-PADILLA, M. (1967). Number and distribution of the Apical Dendritic Spines of the layer V Pyramidal Cells in Man. J. Comp. Neurol. 131: 475-490.
 - MARIN-PADILLA, M. (1970). Prenatal and early postnatal ontogenesis of the human Motor Cortex: A Golgi study. I. The sequential development of the cortical layers. Brain Res. 23: 167-183.
 - MATHERS, L.H., MERCER, K.L. y MARSHALL, P.E. (1978). Synaptic development in the rabbit Superior Colliculus and Visual Cortex. Exp. Brain Res. 33: 353-369.
 - MITRA, N.L. (1955). Quantitative analysis of cell types in mammalian Neocortex. J. Anat. (Lond.); 89: 467-483.
 - MOLLIVER, M.E. y VAN DER LOOS, H. (1970). The ontogenesis of cortical circuitry: The spatial distribution of synapses in somesthetic cortex of newborn dog. Ergeb. Anat. Ent. Gesch. 42: 7-53.
 - MOLLIVER, M.E., KOSTOVIC, I. y VAN DER LOOS, H. (1973). The development of synapsis in the Cerebral Cortex of the human fetus. Brain Res. 50: 403-407.
 - MOREST, D.K. (1969 a). The differentiation of cerebral dendrites: a study of the postmigratory neuroblast in the medial trapezoid body. Z. Anat. Entwicklungsgesch. 128: 271-289.
 - MOREST, D.K. (1969 b) The growth of dendrites in the mammalian Brain. Z. Anat. Entwicklungsgesch. 128: 290-317.

- MOREST, D.K. y MOREST, R.R. (1966). Perfusion-fixation of the Brain with chrome-osmium solutions for the Rapid Golgi method. Amer. J. Anat. 118: 811-832.
- MYSLIVECEK, J. y HASSMANNOVA, J. (1974). Relationship between cortical projection areas in rats. Act. Nerv. Sup. (Praha), 16: 269-272.
- NAUTA, W.J.H. y BUCHER, V.M. (1954). Efferent connections of the striate cortex in the albino rat. J. Comp. Neurol.; 100: 257-286.
- NAUTA, W.J.H. y GYGAX, P.A. (1954). Silver impregnation of degenerating axons in the central nervous system: a modified technique. Stain Technol. 29: 91-93.
- O'LEARY, J.L. (1941). Structure of the area striata of the cat. J. Comp. Neurol. 75: 131-164.
- OLIVERIO, A. (1974). Genetic factors in the control of drug effects on the behaviour of mice. En Genetics of Behaviour. Ed. por J.H.F. Van Abeelen. North-Holland Publishing Co. Amsterdam.
- PARNAVELAS, J.G., LIEBERMAN, A.R. y WEBSTER, K.E. (1977). Organization of neurous in the Visual Cortex, Area 17, of the rat. J. Anat. 124: 305-322.
- PETERS, A. (1976). Projection of Lateral Geniculate Nucleus to Area 17 of the Rat Cerebral Cortex. En Exp. Brain. Res. Suppl. 1. Ed. por O. Creutzfeldt. Pgs. 296-300.
- PETERS, A. y FELDMAN, M.L. (1976). The projection of the Lateral

- Geniculate Nucleus to Area 17 of the Rat Cerebral Cortex. I. General description. J. of Neurocytol. 5: 63-84.
- PETERS,A. y KAISERMAN-ABRAMOF,I.R. (1969). The small Pyramidal Neuron of the Rat Cerebral Cortex. The synapses upon dendritic spines. Z. Zellforsch. 100: 487-506.
 - PETERS,A. y KAISERMAN-ABRAMOF,I.R. (1970). The Small Pyramidal Neuron of the Rat Cerebral Cortex. The perikarion, dendrites and spines. Amer. J. Anat. 127: 321-356.
 - PINES,L.J. y MAIMAN,R.M. (1939). Cells of origin of fibers of the Corpus Callosum. Arch. Neurol. Psychiatr. (Chic.). 42: 1076-1081.
 - POSTERNAK,J., FLEMING,T.C. y EVARTS,E. (1959). Effect of interruption of the visual pathway on the response to geniculate stimulation. Science, 129: 39-40.
 - PURPURA,D.P. (1975). Dendritic differentiation in Human Cerebral Cortex: Normal and aberrant developmental patterns. En Adv. in Neurol. Vol. 12. Ed. por G.W. Kreutzberg. Raven Press. New York. pgs. 91-116.
 - RAISMAN,G. y MATTHEWS,M.R. (1972). Degeneration and regeneration of synapses. En The Structure and Function of Nervous Tissue. 4. Ed. por G.H. Bourne. Academic Press. New York. Pgs. 61-105.
 - RALL,W. (1962). Electrophysiology of a dendritic neuron model. Biophys. J. 2: 146-167.

- RALL, W. (1970). Dendritic neuron theory and dendrodendritic synapses in a simple cortical system. En The Neurosciences. Second Study Program. Ed. por F.O. Schmitt. The Rockefeller University Press. New York. Pgs. 552-565.
- RAMON y CAJAL, S. (1891). Sur la structure de l'ecorcé cerebralé de quelques mammiféres. Cellule 7: 125-176.
- RAMON y CAJAL, S. (1909-1911). Histologie du Systeme Nerveux de l'Homme et des Vertebrés. 2 Vol. Trad. por L. Azoulay. Reimpr. por el Instituto Ramón y Cajal del C.S.I.C. Madrid. 1952-1972.
- RAMON-MOLINER, E. (1961). The histology of the postcruciate gyrus in the cat. III. Further observations. J. Comp. Neurol. 117: 229-250.
- RIBAK, C.E. y PETERS, A. (1975). An autoradiographic study of the projections from the Lateral Geniculate Body of the rat. Brain Res. 92: 341-368.
- RIESEN, A.H. (1961). Stimulation as a requirement for growth and function in behavioural development. En Functions of varied experience. Ed. por D.W. Fiske y S.R. Maddi. Dorsey Press. Homewood. Illinois. Pgs. 57-80.
- RODIECK, R.W. y SMITH, P.S. (1966). Slow dark discharge rythms of cat retinal ganglion cells. J. Neurophysiol. 29: 942-953.
- ROSE, M. (1929). Cytoarchitektonischer atlas der Grobhirnrinde der Maus. J. Psychol. Neurol. (Lpz). 40: 1-51.

- ROSENZWEIG, M.R., KRECH, D., BENNETT, E.L. y DIAMOND, M.C. (1962). Effects of environmental complexity and training on brain chemistry and anatomy. A replication and extension. J. Comp. Physiol. 55: 529-537.
- RUIZ MARCOS, A., SALA, J. y ALVAREZ, R. (1979). Effect of specific and non-specific stimuli on the Visual and Motor Cortex of the rat. Brain Res. 170: 61-69.
- RUIZ MARCOS, A., SANCHEZ-TOSCANO, F., ESCOBAR DEL REY, F. y MORREALE DE ESCOBAR, G. (1979). Severe hypothyroidism and the maturation of the rat Cerebral Cortex. Brain Res. 162: 315-329.
- RUIZ MARCOS, A. y VALVERDE, F. (1969). The temporal evolution of the distribution of dendritic spines in the Visual Cortex of normal and dark raised mice. Exp. Brain Res. 8: 284-294.
- RUIZ MARCOS, A. y VALVERDE, F. (1970). Dynamic architecture of the Visual Cortex. Brain Res. 19: 25-39.
- RUSSELL, I.S. y MORGAN, S.C. (1979). Some studies of interhemispheric integration in the rat. En Structure and Function of Cerebral Commissures. Ed. por I.S. Russell, M.W. Van Hof y G. Berlucchi. The Mc.Millan Press LTD. London. Pgs. 181-194.
- RYUGO, R., RYUGO, D.K. y KILLACKEY, H.P. (1975). Differential effect of enucleation on two populations of layer V Pyramidal Cells. Brain Res. 88: 554-559.
- SALAS, M., DIAZ, S. y NIETO, A. (1974). Effects of Neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the

- rat. Brain Res. 73: 139-144.
- SALAS, M., DIAZ, S. y CIWTRA, L. (1977). Thyroid and nutritional influences on electrocortical activity development. En Thyroid Hormones and Brain Development. Ed. por G.D. Grave. Raven Press. New York. Pgs. 255-269.
 - SANCHEZ-TOSCANO, F., ESCOBAR DEL REY, F., MORREALE DE ESCOBAR, G. y RUIZ MARCOS, A. (1977). Measurement of the effects of hypothyroidism on the number and distribution of spines along the Apical Shaft of Pyramidal Neurons of the rat Cerebral Cortex. Brain Res. 126: 547-550.
 - SCHADE, J.P., BACKER, M. y COLON, E. (1964). Quantitative analysis of neuronal parameters in the maturing Cerebral Cortex. En Progress in Brain Res. 4: 150-175.
 - SCHADE, J.P., MEETER, K. y VAN GROENINGEN, W.B. (1962). Naturational aspects of the dendrites in the human cerebral cortex. Acta Morphol. Neerl. Scand. 5: 37-48.
 - SCHAPIRO, S. y VUKOVICH, K. (1970). Early experience effects upon cortical dendrites: A proposed model for development. Science, 167: 292-294.
 - SCHERRER, J. y FOURMENT, A. (1964). Electro-cortical effects of sensory deprivation during development. Progr. Brain Res. 9: 103-112.
 - SHOLL, D.A. (1953). Dendritic organization in the neurons of the Visual and Motor Cortices of the cat. J. Anat. (Lond.) 87: 387-406.

- SHOLL, D.A. (1955). The organization of the Visual Cortex in the cat. J. Anat. 89: 33-46.
- SHOLL, D.A. (1956). The organization of the Cerebral Cortex. London Methuen.
- SHOLL, D.A. y UTTLEY, A.M. (1953). Pattern discrimination in the Visual Cortex. Nature (Lond.) 171: 387-388.
- SOTELO, C. (1973). Permanence and fate of paramembranous synaptic specializations in "mutants" and experimental animals. Brain Res. 62: 345-351.
- SOTELO, C. (1975). Dendritic abnormalities of Purkinje cells in the Cerebellum of neurologic mutant mice (weaver and staggerer). En Advances in Neurology. Vol. 12. Ed. por G.W. Kreutzberg. Raven Press-New York. Pgs. 335-352.
- SOTELO, C. (1978). Purkinje cell ontogeny: formation and maintenance of spines. En Progress in Brain Res. Vol. 48. Ed. por M.A. Corner, R.E. Baker, N.E. Van de Pol, D.F. Swaab y H.B.M. Uylings. Elsevier, Amsterdam. Pgs. 149-170.
- SPERRY, R.W. (1968). Plasticity of neural maturation. Dev. Biol. Suppl. 2: 306-327.
- SPRAGUE, J.M. (1966). Interaction of Cortex and Superior Colliculus in mediation of visually guided behaviour in the cat. Science, 153: 1544-1547.
- SZENTAGOTHAI, J. (1965). The use of degeneration methods in the

- investigation of short neuronal connexions. En Progress in Brain Res. Vol. 14. Ed. por M. Singer y J.P. Schadé. Elsevier. Amsterdam. Pgs. 1-32.
- SZENTAGOTHAI, J. (1973). Synaptology of the Visual Cortex. En Handbook of Sensory Physiology. Vol. VII/3. Ed. por R. Jung. Springer-Verlag. Berlin. Pgs. 269-324.
- SZENTAGOTHAI, J. (1976). Basic circuitry of the neocortex. Exp. Brain Res. Suppl. 1. Ed. por O. Creutzfeldt. Springer-Verlag. Berlin. Pgs. 282-287.
- SZENTAGOTHAI, J. y HAMORI, J. (1969). Growth and differentiation of synaptic structures under circumstances of functional deprivation and of lack in distant connexions. En Cellular Dynamics of the Neuron, Symposium of the International Society for Cell Biology. Vol. 8. Ed. por S.H. Barondes. Academic Press. New York. Pgs. 301-320.
- TOYAMA, K., TOKASHIKI, S. y MATSUNAMI, K. (1969). Synaptic action of commissural impulses upon association efferent cells in cat Visual Cortex. Brain Res. 14: 518-520.
- TSANG, Y.C. (1937). Visual Centers in blinded rats. J. Comp. Neurol. 66: 211-261.
- UTTLEY, A.M. (1955). The probability of neural connexions. Proc. Roy. Soc. B., 144: 229-240.
- VALVERDE, F. (1967). Apical dendritic spines of the Visual Cortex and light deprivation in the mouse. Exp. Brain Res. 3: 337-352.

- VALVERDE, F. (1968). Structural changes in the area striata of the mouse after enucleation. Exp. Brain Res. 5: 274-292.
- VALVERDE, F. (1971). Rate of and extent of recovery from dark rearing in the Visual Cortex of the mouse. Brain Res. 33: 1-11.
- VALVERDE, F. y ESTEBAN, M.E. (1968). Peristriate cortex of mouse: location and effects of enucleation on the number of dendritic spines. Brain Res. 9: 145-148.
- VALVERDE, F. y RUIZ MARCOS, A. (1969). Dendritic spines of the Visual Cortex and light deprivation in the mouse: Introduction to a Mathematical Model. Exp. Brain Res. 8: 269-282.
- VAN DER LOOS, H. (1965). The improperly oriented pyramidal cell in the Cerebral Cortex and its possible bearing on problems of growth and cell orientation. Bull. Johns Hopkins Hosp. 117: 228-250.
- VILLAVARDE, J.M. (1924). Les connexions commissurales des régions posterieures du cerveau du lapin. Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid, 22: 99-141.
- VILLAVARDE, J.M. (1932 a). Sur la terminaison des fibres calleuses dans l'ecorcé cerebrale. Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid. 27: 275-297.
- VILLAVARDE, J.M. (1932 b). Quelques details sur la maniere dont les fibres calleuses se distribuent dans l'ecorcé cerebrale. Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid. 27: 345-375.

- VILLAVERDE, J.M. (1932 c). Contribution a la connaissance du systeme commissural de l'ecorce motrice de la chauvesouris. Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid. 28: 75-101.
- VON GUDDEN (1900). Citado por GOODMAN (1932).
- VRENSEN, G. y DE GROOT, D. (1974). The effect of dark rearing and its recovery on synaptic terminals in the Visual Cortex of rabbits. A quantitative electron microscope study. Brain Res., 78(2): 263-278.
- WALBERG, F. (1963). Role of normal dendrites in removal of degenerating terminal boutons. Exp. Neurol. 8: 112-124.
- WESTRUM, L.E. (1969). Electron microscopy of degeneration in the lateral olfactory tract and plexiform layer of the prepyriform cortex of the rat. Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie, 98: 157-187.
- WIESEL, T.N., HUBEL, D.H. y LAM, D.M.K. (1974). Autoradiographic demonstration of ocular-dominance columns in the monkey Striate cortex by means of transneuronal transport. Brain Res. 79: 273-279.
- WILSON, M.E. (1968). Cortico-cortical connexions of the cat Visual Areas. J. Anat. 102(3): 375-386.
- WINICK, M. y NOBLE, A. (1966). Cellular response in rats during malnutrition at various ages. J. Nutr. 89: 300-306.
- WISE, S.P. y JONES, E.G. (1976). Organization and postnatal develop

ment of the commissural projection of the rat somatic sensory cortex. J. Comp. Neurol. 168: 313-344.

- WOLFF, J.R. (1976). Quantitative analysis of topography and development of synapses in the Visual Cortex. En Exp. Brain Res. Suppl. 1. Ed. por O. Creutzfeldt. Springer-Verlag. Berlin. Pgs. 259-263.
- WOLFF, J.R. (1978). Ontogenetic aspects of cortical Architecture: Lamination. En Architectonics of the Cerebral Cortex. Ed. por M.A.B. Brazier y H. Petsche. Raven Press. New York. Pgs. 159-174.
- WOLFF, J.R. y ZABORSZKY, L. (1979). On the normal arrangement of fibres and terminals and limits of plasticity in the callosal system of the rat. En Structure and Function of Cerebral Commissures. Ed. por I.S. Russell, M.W. Van Hof y G. Berlucchi. The Mc. Millan Press Ltd. London. Pgs. 147-154.
- YORKE, C.H. (Jr) y CAVINESS, V.S. (Jr) (1975). Interemispheric neocortical connections of the Corpus Callosum in the normal mouse: A study based on anterograde and retrograde methods. J. Comp. Neurol. 164: 233-149.

