

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



TESIS DOCTORAL

Influencia de la inmovilidad en el desarrollo de la corteza cerebral de la rata y capacidad de recuperación de la misma

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

José Sala Catalá

DIRECTOR:

Antonio Ruiz Marcos

Madrid, 2015

TP
1984
COS

José Sala Catalá



* 5 3 0 9 8 6 2 8 9 7 *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x-53-016816-1

INFLUENCIA DE LA INMOVILIDAD EN EL DESARROLLO DE LA CORTEZA CEREBRAL
DE LA RATA Y CAPACIDAD DE RECUPERACION DE LA MISMA

Departamento de Morfología Microscópica
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Complutense de Madrid
1984



BIBLIOTECA

Colección Tesis Doctorales. Nº

8/84

© José Sala Catalá .
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1984
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-39673-1983

JOSE SALA CATALA

INFLUENCIA DE LA INMOVILIDAD EN EL DESARROLLO DE LA CORTEZA
CEREBRAL DE LA RATA Y CAPACIDAD DE RECUPERACION DE LA MISMA

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

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS, 1981

INFLUENCIA DE LA INMOVILIDAD EN EL DESARROLLO DE LA CORTEZA
CEREBRAL DE LA RATA Y CAPACIDAD DE RECUPERACION DE LA MISMA

JOSE SALA CATALA

TRABAJO PRESENTADO PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS POR LA UNI-
VERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, POR JOSE
SALA CATALA.

Madrid, 1981

Vº Bº

EL DIRECTOR DE LA TESIS



Fdo: Antonio Ruiz Marcos

A mis padres Pepe y Carmen

	<u>Pags.</u>
I. INTRODUCCION	1
II. MATERIAL Y METODOS	12
A. Material Biológico	13
B. Esquema Experimental	14
C. Perfusión de los animales	17
D. Técnica Histológica	18
E. Obtención de Datos	20
F. Procesamiento de Datos	26
III. RESULTADOS	32
I. Efecto que la restricción de movimiento desde los 20 días de edad tiene en el desarrollo de la Corteza Cerebral de la rata	34
II. Efecto de la restricción de movimiento desde los 40 y 80 días sobre el desarrollo de la Corteza Cerebral	53
III. Efecto de la liberación de animales en restricción a los 40 y 80 días	67
IV. DISCUSION	80
1- La restricción de movimiento a edad temprana	81
2- Plasticidad cortical en edades adultas	87
3- Modelos de depresión y recuperación corticales	92
4- La función de las espinas dendríticas del tallo apical de las neuronas piramidales	96
V. CONCLUSIONES	98
VI. AGRADECIMIENTOS	101
VII. BIBLIOGRAFIA	103

INTRODUCCION

INTRODUCCION.

Los estudios sobre desarrollo del cerebro recibieron un impulso importante cuando O.D.Hebb planteó en 1949 el fenómeno de la influencia de la experiencia sobre dicho desarrollo como un problema de relación entre el medio ambiente y el comportamiento.

La importancia de este planteamiento estriba en que por primera vez abre un enorme campo a la terapeutica del daño cerebral. Por otra parte, dado que el desarrollo del cerebro se realiza de acuerdo con unos ciertos patrones (Valverde y Ruiz Marcos, 1969; Ruiz Marcos y Valverde, 1970), el llegar a conocer con precisión las interrelaciones entre los distintos tipos de estructuras ambientales y el desarrollo de las estructuras y funciones corticales nos colocaría en una situación idónea para idear terapéuticas de recuperación de lesiones morfológicas y funcionales cerebrales.

El punto de vista de Hebb de la acción de la experiencia sobre el organismo, describe el desarrollo de la flexibilidad comportamental y la capacidad del organismo para hacer frente a un problema en diferentes modas. Como ya he indicado, sugirió que muchos aspectos relacionados con la conducta del individuo requieren que el organismo sea consciente del tipo de relaciones entre su ambiente y su propio comportamiento. La experiencia del organismo tiende a ampliar el rango de relaciones distintas con las cuales el organismo se familiarizará. La capacidad para resolver

problemas dentro de ese rango de relaciones, en caso de daño cerebral posterior, puede verse menos disminuida si el organismo es forzado a aprender estas relaciones anteriormente.

Hebb fue así capaz de separar dos componentes de lo que él llamó "*comportamiento inteligente*"; una componente que depende de la experiencia temprana del organismo y otra independiente de la experiencia, cuya supervivencia estaba condicionada a aspectos de la lesión.

Asímismo demostró la importancia de la primera, comparando el aprendizaje en laberintos de ratas ciegas en la infancia, con el de ratas hechas ciegas en edad adulta. Concluyó que éstas últimas, conservaban mejor su capacidad de aprendizaje. Sugirió también que el cerebro adulto sería menos sensible que el cerebro infantil a los efectos comportamentales del daño, apuntando con ésta observación la hipótesis de un "*período crítico*" de vulnerabilidad cerebral.

En la actualidad, la idea de un "*período crítico*" en el desarrollo del cerebro, durante el cuál y sólo durante el cuál, el sistema es sensible a la experiencia, está en discusión. Ha contribuido a esto principalmente Isaacson () con su observación de que en muchos de los estudios confirmatorios de la mayor recuperación a edad temprana, no han sido controlados adecuadamente, ni las diferencias en la extensión de la lesión, ni el tiempo de recuperación. Por otra parte, la recuperación del daño cerebral aparen

temente puede variar con el *test* usado. Cuando estas variables están bien controladas, no parece haber variación con la edad. Más recientemente los trabajos de Rutledge y Col (1974) y Clydings y Col (1978) han confirmado estas reservas.

También debido a que se ha querido trabajar a niveles funcionales complejos: *comportamiento, memoria, aprendizaje*, sin pasar en gran medida por el primer nivel morfológico, se han obtenido resultados equívocos, tanto en lo que respecta al concepto "*período crítico*" como en cuanto al papel de la experiencia adulta en la recuperación del daño cerebral. (Isaacson, 1975; Kelche y Will, 1978).

Nosotros pensamos que un buen abordaje de la problemática del desarrollo cerebral, requiere primero centrarse en aspectos fundamentalmente morfológicos, tanto en cuanto las estructuras son el sustrato de las altas funciones cerebrales.

En el trabajo morfológico desarrollado hasta ahora sobre el problema que nos ocupa, se han utilizado fundamentalmente dos enfoques.

El primer enfoque centra la problemática del desarrollo y de la plasticidad con la experiencia en el estudio, durante el período postnatal y de desarrollo temprano (supuesto período crítico), de la influencia que ejerce la presencia o ausencia en el medio ambiente de una estimulación específica sobre el desarrollo y

la plasticidad de una determinada estructura cerebral (hipotálamo, distintas áreas corticales, etc...).

En este sentido los primeros trabajos de Valverde(), Globus y Scheibel (1967) y Hubel y Wiessel (1963) plantearon la evidencia de que la ausencia de estimulación lumínica afecta negativamente el desarrollo del sistema visual.

Posteriormente Cragg (1975), Gyllenstein y Col (1965), Parnavelas y Col (1977), Borges y Berry (1976) entre otros, estudiaron el efecto que el exceso de estimulación o una situación de estimulación constante, ejerce sobre la morfología de distintas estructuras celulares del cortex visual.

Por su parte Vrensen y de Cruot (1974) estudiaron los efectos de deprivación lumínica a nivel de microscopía electrónica y Creenough y Col (1973) y Ryngo y Col (1975) estudian el efecto de este tipo de deprivación en otras áreas de la corteza cerebral.

El segundo enfoque de los estudios de desarrollo utilizado hasta ahora, ha consistido en describir el efecto que una estimulación compleja no específica, proveniente del medio, ejerce sobre el desarrollo y la plasticidad del cerebro, considerado este en su totalidad o en amplias partes sin una significación anatómica especial.

Aquí hay que citar los trabajos pioneros de Bennet y Col

(1964), Rosenzweig y Col (1962) y Schapino y Col (1970). Estos autores descubrieron que el empobrecimiento o enriquecimiento del ambiente como emisor de estimulación compleja, no específica, se correlacionaba bien con aumentos o disminuciones del peso de distintas partes del cerebro de animales experimentales respecto del de los animales controles.

Por otra parte y con el objeto de ver qué efecto tienen sobre el desarrollo cerebral las situaciones carenciales, Dobbing (1974) y Salas y Col (1974), empleando como situación experimental la desnutrición, estudiaron el efecto que ésta tiene sobre el desarrollo cerebral. Más recientemente Leuba y Col (1980) y Clylings y Col (1978) plantearon el estudio del desarrollo del cerebro, tanto cuando se inducen en edad neonatal, como cuando se inducen en edad adulta, describiendo Clylings que incluso a edad adulta, este tipo de experiencias puede producir cambios en la morfología cortical. Resultados éstos que, desde otro punto de vista complementario han confirmado los trabajos de Ruiz Marcus y Col (1979) realizados en éste laboratorio y referentes al efecto que el hipotirvidismo inducido en la rata adulta ejerce sobre el desarrollo cortical.

Estos enfoques tienen limitaciones que es importante considerar para situar adecuadamente el planteamiento de esta Tesis Doctoral.

Los trabajos centrados en el estudio que distintos tipos

de estímulos tienen sobre el desarrollo cortical, aparte de no estudiar el efecto de los cambios de estimulación en el adulto, nos dan una información insuficiente, ya que sólo tienen en cuenta el efecto de los estímulos específicos respecto de su área cortical (ejem. luz-área visual), no teniendo en cuenta la influencia que en este desarrollo pueden tener estímulos de tipo no específico (ej. movimiento-área visual). Con esto se quiere indicar que la ambientación necesaria para la deprivación o la sobreestimulación ambiental, por su artificiosidad (jaulas herméticas, manipulación difícil, etc..) puede influir y de hecho influye (ver tema de J. Sala, presentada en esta Facultad en Enero de 1979) en la interpretación de los resultados obtenidos al estudiar efecto que un estímulo, por ejemplo luz, tiene en el área cortical específica, visual en este caso.

Con esta perspectiva nos planteamos nuestro anterior trabajo (Ruiz Marcos y Col, 1979) que consistió en ver hasta qué punto el desarrollo de dos áreas funcionalmente distintas del neocortex de la rata, las áreas visual y motora, eran afectadas por dos tipos de deprivación ambiental: la obscuridad y la restricción de movimiento.

Ruiz Marcos y Valverde en 1969 llegaron a descubrir "cómo" un tipo de estímulo específico respecto de un área cortical (luz-corteza visual) influía en el desarrollo de ésta sin embargo, ni los trabajos ya mencionados respecto al efecto de un tipo de estimulación global se han planteado "cómo" la estimulación no espe-

cífica influye en el desarrollo de áreas corticales que no son primarias respecto de ellas.

Este es uno de los problemas que se han pretendido resolver como parte de ésta Tesis.

Las conclusiones de nuestro trabajo anterior fueron muy orientadoras, puesto que clarificaron el papel relativo de la estimulación específica o no específica sobre el desarrollo. Quedó claro que la restricción de movimiento tenía un papel predominante sobre el desarrollo de las áreas tanto motora como visual. Las ratas que se encontraban en situación de restricción de movimiento desde los veinte días, frenaban su desarrollo cortical tanto estuvieran en luz como en oscuridad.

Sin embargo en este trabajo de tesina, por la naturaleza de la problemática planteada, sólo estudiamos una edad (90 días) y sólo dos áreas corticales (la motora y la visual), además, quedó por investigar la capacidad de recuperación o afección del cerebro cuando la situación ambiental cambia a edades posteriores a veinte días. Por otra parte, poseemos en nuestro laboratorio métodos analíticos muy potentes que nos permitían ampliar el número de variables y así obtener mayor información. Teniendo en cuenta todo esto, nos llegamos a plantear nuevas preguntas que centran el objeto definitivo de este trabajo de Tesis.

- ¿ Aparte de la Corteza Visual (CV) y de la Corteza

Motora(CM), responde plásticamente a las situaciones ya mencionadas el Cortex Somatosensorial (CS)?.

- ¿ Existe una "edad crítica" a partir de la cual la corteza cerebral no responde a los cambios ambientales?.
- ¿ Existe un "período crítico" a partir del cual, un área cortical deprimida por una situación experimental de carencia no puede ya recuperarse?, y en este sentido....
- ¿ Condiciona la edad del animal el grado de recuperación o afectación?.
- ¿ Se deprime la corteza a nivel de toda la dendrita apical (cédula como un todo) o a nivel de determinadas capas?.
- ¿ Se recupera la corteza a nivel de toda la dendrita apical (como un todo) o a nivel de determinadas capas?.

Pensamos que las respuestas a estas preguntas supondrían una aportación importante a la reciente especialidad de "NEUROBIOLOGIA DEL DESARROLLO".

Asímismo y con objeto de contestar las dos últimas - preguntas planteadas, estudiamos la distribución que a lo largo del tallo apical presentaban las diferencias absolutas en el Número Medio de espinas por segmento de 50μ , calculadas entre la edad correspondiente y la edad de partida de la experimentación. La comparación entre dos grupos de la misma edad respecto a la edad común de partida, uno de ellos "control" y el otro sometido a condiciones de restricción de movimiento, nos permitían - responder a las dos últimas preguntas.

Para este estudio se ha elegido (véase Material y Métodos) como un buen índice del desarrollo cortical las espinas de las dendritas apicales de neuronas piramidales de la capa V de ambas cortezas. (Véase figura 1).

Creemos que esta estructura es ideal para los estudios de plasticidad y desarrollo corticales porque constituyen el principal aparato receptor de las dendritas apicales de las neuronas piramidales. Observadas por vez primera por Ramón y Cajal en 1891 mediante el método de Golgi, en principio se cuestionó su existencia real. En 1959, Gray, empleando la microscopía electrónica demostró su efectiva realidad como estructuras complejas sobre las que se establecen sinapsis de tipo I (según Gray, 1959) o asimétricas, (según Colonnier, 1968).

Su papel funcional no es completamente comprendido - (ver las hipótesis: Chang, 1952; Rall, 1962, 1970; Peters y Kai-



FIGURA I - Neurona Piramidal de la capa V de la Corteza Motora
de una rata de 60 días de edad. (Método de Golgi, ampl. x320)

serman Abramof, 1970; Diamond y col.,1970), aunque está ampliamente constatada la plasticidad morfológica con que responden a diversas situaciones experimentales: deprivación visual (Valverde, 1967, 1971; Ruiz Marcos y Valverde, 1969; Globus y Scheibel, 1967 b), anucleación (Globus y Scheibel, 1961, 1967; Valverde, 1968; Ruygo y col., 1975), deprivación alimenticia (Salas y col., 1974) o situaciones patológicas (Purpura, 1975; Ruiz Marcos y col., 1979, 1980,,b,1981). Todo esto apunta a una importante significación morfofuncional dentro de la corteza cerebral y que la hace idónea en estudios de plasticidad y desarrollo.

12

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS.

A - Material Biológico.

El animal experimental utilizado ha sido la rata noruega (*Rattus norvegicus*) de la raza Wistar, en nuestro propio animalario.

Se utilizaron las crias procedentes de 12 ratas madres, cuyas camadas fueron igualadas a 8 crias cada una al día siguiente del nacimiento, con objeto de proporcionar a todos los individuos, las mismas posibilidades de desarrollo durante los primeros 20 días de vida, momento en el que se efectuó el destete de los animales.

Estos eran posteriormente trasladados a dos tipos de jaulas. Un primer tipo de jaula standard, de dimensiones de 30 x 20 x 20 cm, en la que se colocaban dos o tres animales del mismo sexo y en las que los animales poseían libertad de movimientos. Y un segundo tipo de jaula, especialmente diseñada en nuestro laboratorio, para restringir la movilidad de los animales.

Las modificaciones introducidas en las jaulas standar para provocar la "restricción" consistían en un doble suelo situado a 5 cm del techo de la jaula, y tres paredes equidistantes, que producían en dicha jaula cuatro compartimentos iguales,

y por último, una pared trasera progresivamente adaptable al tamaño del animal. Este último detalle se ideó para evitar situaciones extremas de confinamiento en las que la intensidad del *stress* provocara úlceras u otros efectos (Véase Tesina J.Sala).

Los animales fueron criados con una dieta adecuada e igual en todos los casos, para, de este modo, 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, que ejerce el factor alimenticio, ya que 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).

B - Esquema experimental. (Figura 2).

Se utilizaron un total de 84 ratas divididas en grupos homogéneos, que fueron colocadas en las diferentes situaciones experimentales a partir de los 20 días (Véase figura 2).

Estas ratas fueron el objeto de tres experimentos que designaré por el orden en el que fueron realizados.

Experimento 1. - Consistió en mantener los dos grupos de ratas en condiciones de "libres" y "restringidas" hasta la edad de 120 días e ir estudiando la evolución

- 15 -

del efecto de estas condiciones sobre el desarrollo cortical, sacrificándolas respectivamente a los 30, 40, 80 y 120 días de edad, con objeto de estudiar - su corteza cerebral a esas edades.

Se formaron pues en este experimento, un total de 9 grupos: 5 "controles" sacrificados a los 20, 30, 40, 80 y 120 días, de cuatro ratas cada uno, y 4 "restringidas" de 30, 40, 80 ó 120 días, con 6 ratas cada uno.

Experimento 2.- Consistió en mantener dos grupos de animales en condiciones "controles" hasta los 40 y 80 días de edad, respectivamente, para posteriormente conducirlos a situación de "restricción" en jaulas especiales.

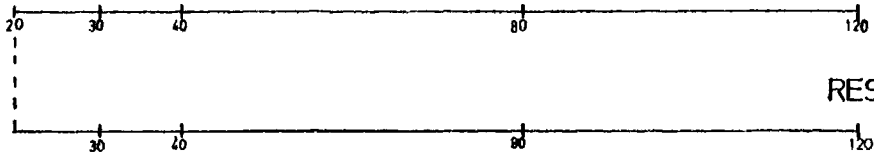
El grupo "restringido" desde 40 días, era paulatinamente sacrificado a los 50, 60 y 80 días - para estudiar la microestructura de la corteza cerebral.

El grupo "restringido" desde los 80 días, - era enteramente sacrificado a los 120 días.

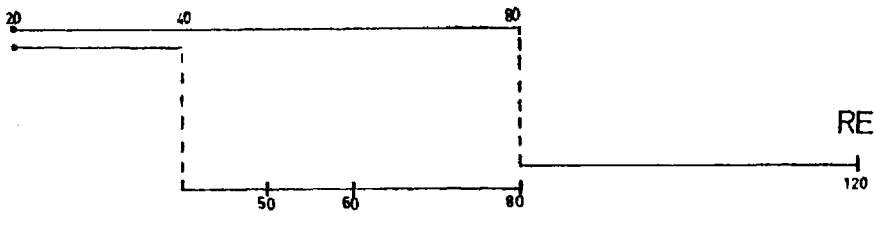
Estudiábamos aquí 4 grupos (50, 60, 80 ó 120 días), de 4, 5, 5, 5 ratas respectivamente.

EXPERIMENTO 1

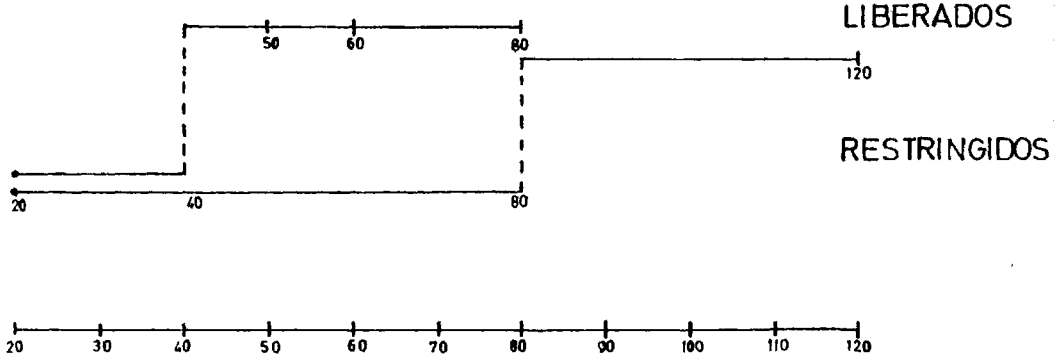
16



EXPERIMENTO 2



EXPERIMENTO 3



EDAD (dias)

FIGURA 2 -- Esquema experimental

Experimento 3.- Consistió en mantener en "restricción" desde los 20 días de edad a dos grupos de animales y eran "liberadas" a condiciones controles paulatinamente a los 40 y 80 días.

Al igual que en el experimento anterior, el primer grupo "liberado" a los 40 días, se sacrificaba a los 50, 60 y 80 días, para su estudio microscópico.

El grupo "liberado" a los 80 días, era estudiado a la edad de 120 días.

En los cuatro grupos(50, 60, 80 y 120) empleamos 5, 5, 5 y 4 ratas, respectivamente.

C - Perfusión 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 por ciento neutralizado a pH de 7,2. Este pH ha sido considerado (Morest y Morest, 1966) como el óptimo para la fijación de las neuronas y es aquél con el que el método de Golgi ha dado sus mejores resultados.

Previamente a la fijación, todos los animales fueron pe

sados con objeto de confirmar la independencia del desarrollo global de los animales respecto a la dieta y situaciones experimentales a las que estuvieron sujetos.

Tras extraer el cerebro, se procedía a cortar las partes occipital y medio-frontal del mismo, que contienen las áreas visual, motora y somatosensorial.

Las piezas tenían un grosor no mayor a 4 mm, e incluían los dos hemisferios, que eran estudiados por igual.

D - Técnica Histológica.

Las "piezas" 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 - de *osmio-dicromato potásico* conteniendo 12 gramos de *dicromato potásico* y un gramo de *ácido ósmico* por cada 500 c.c. de esta solución, para cada pieza.
- Breve lavado de la pieza en un pequeño volumen de *solución acuosa de nitrato de plata* al 0,75% y almacenamiento duran

te 24 horas en la misma solución argéntica. Esto 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.

Dadas las características y posición en el corte de los tallos apicales y con objeto de aumentar la probabilidad de obtenerlos 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 sólo 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 sus espinas dendríticas (figura 3), permite realizar un estudio cuantitativo fiable de las mismas.

E - Obtención 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 resultados obtenidos, se procuró repartir uniformemente el número de neuronas entre los distintos animales estudiados. La delimitación topográfica de las tres áreas, visual, motora y somatosensorial (CV, CM, y CS), se ha hecho ateniéndose a los criterios de Krieg (1946) (Figura 4). Las capas se han localizado de acuerdo con la distribución y proporciones dadas por Rose. ().

Variables consideradas.

Como ya indicábamos en la introducción, donde justificábamos las variables a considerar en este estu-



»

FIGURA 3 - Detalle del Tallo Apical de una Neurona Piramidal de la capa V de la Corteza Visual. (Método de Golgi rápido. ampl. x 500).

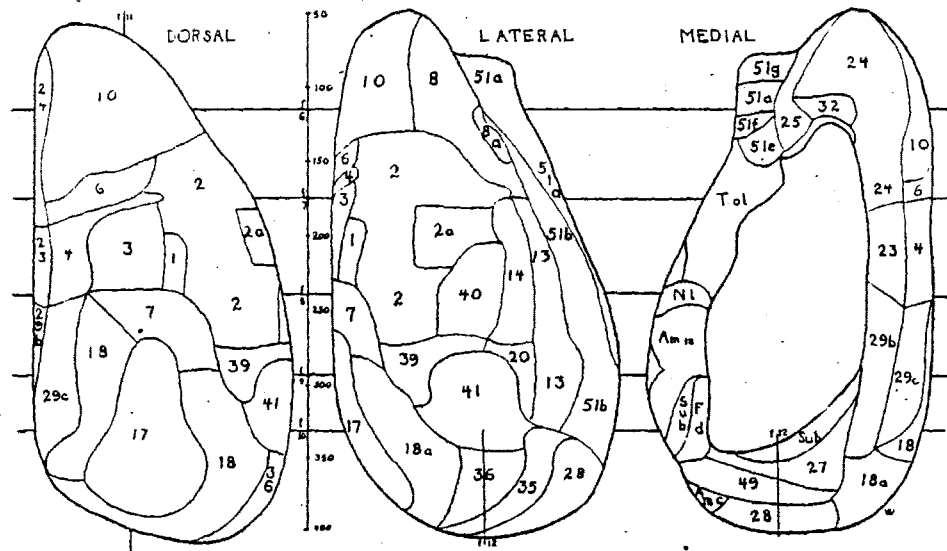


Figure 1

FIGURA 4 - Delimitación topográfica de las áreas corticales. [Según Krieg, W.J.S.(1946)]

dio, estas son tres:

- 1) - El Número Medio de espinas dendríticas por Tallo Apical.
- 2) - El Número Medio de espinas dendríticas por segmento de 50 μ a lo largo del tallo.
- 3) - La Diferencia de Número Medio de espinas dendríticas por segmento de 50 μ a lo largo del tallo, entre dos edades sucesivas.

El investigador toma como dato el número de espinas existente en cada segmento de 50 μ de tallo apical, - contadas a partir del soma neuronal mediante un microscopio Zeiss Standard.14. El contaje se efectuó con un aumento de x 500 y con la ayuda de un microtomo ocular previamente calibrado.

Estos datos son introducidos en la memoria permanente de disco de un ordenador PDP-11/40 en forma de ficheros (véase figura 5), de forma que cada fichero almacena los datos correspondientes a una edad y condición experimental determinadas, con objeto de poder ser procesadas posteriormente con el sistema de Programas del Departamento.

Cada fichero contiene los datos correspondientes

RATA	EDAD	CD	SG1	SG2	SG3	SG4	SG5	SG6	SG7	SG8	SG9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	CORT.	SOM.	PROF.	NEU	
43	I	120	I	1	I	2I	16I	22I	34I	44I	37I	30I	40I	37I	38I	30I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	1725I	0	I	960I	1
43	I	120	I	1	I	2I	6I	26I	31I	26I	20I	23I	23I	22I	23I	19I	29I	20I	24I	17I	0I	0I	0I	0I	0I	975I	2
43	I	120	I	1	I	2I	15I	32I	35I	36I	27I	23I	33I	29I	20I	20I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	915I	3
43	I	120	I	1	I	3I	19I	24I	34I	36I	25I	31I	34I	32I	28I	20I	18I	22I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	900I	4
43	I	120	I	1	I	2I	12I	28I	39I	39I	24I	26I	30I	29I	35I	37I	30I	27I	25I	20I	0I	0I	0I	0I	0I	1005I	5
44	I	120	I	1	I	2I	13I	34I	51I	50I	46I	56I	40I	38I	36I	38I	44I	40I	36I	38I	0I	0I	0I	0I	0I	900I	6
44	I	120	I	1	I	0I	8I	29I	39I	48I	45I	43I	51I	50I	42I	40I	43I	38I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	870I	7
45	I	120	I	1	I	1I	11I	26I	35I	36I	44I	38I	45I	39I	38I	39I	36I	24I	27I	28I	0I	0I	0I	0I	0I	855I	8
45	I	120	I	1	I	2I	7I	18I	30I	41I	35I	39I	40I	30I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	840I	9
45	I	120	I	1	I	2I	3I	22I	42I	46I	50I	45I	48I	42I	42I	47I	40I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	810I	10
45	I	120	I	1	I	2I	18I	38I	41I	30I	44I	40I	38I	23I	28I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	675I	11
45	I	120	I	1	I	4I	21I	30I	34I	36I	30I	35I	30I	30I	31I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	735I	12
45	I	120	I	1	I	2I	15I	37I	44I	41I	39I	31I	28I	24I	20I	27I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	735I	13
45	I	120	I	1	I	0I	12I	39I	56I	50I	38I	38I	34I	36I	36I	37I	32I	35I	34I	28I	0I	0I	0I	0I	0I	870I	14
45	I	120	I	1	I	1I	9I	28I	33I	40I	48I	60I	52I	49I	49I	43I	43I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	675I	15
45	I	120	I	1	I	1I	23I	28I	36I	36I	39I	34I	41I	31I	25I	26I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	750I	16
45	I	120	I	1	I	2I	6I	15I	19I	19I	38I	30I	31I	34I	33I	40I	37I	31I	29I	37I	0I	0I	0I	0I	0I	900I	17
46	I	120	I	1	I	1I	4I	15I	24I	38I	28I	37I	41I	40I	35I	29I	20I	18I	15I	0I	0I	0I	0I	0I	0I	1020I	18
46	I	120	I	1	I	3I	11I	20I	30I	43I	45I	58I	50I	34I	44I	38I	36I	38I	32I	28I	0I	0I	0I	0I	0I	930I	19

PAUSE --

24

FIGURA 5 - Fichero de datos correspondiente al Cortex Somatosensorial de un grupo de ratas CONTROL de 120 días.

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. (Figura 5).

- Número 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 neuroma.
- Número de relleno:
- Número de espinas: en cada segmento de 50 μ en que ha sido dividido el tallo apical. Habiéndose previsto una longitud máxima de 1000 μ , se ha dejado sitio para 20 segmentos, llenándose con ceros aquellos segmentos en que no fue encontrada ninguna espina.
- Espesor total de la Corteza: en el punto en que está localizada la neurona.
- Números de 00 de relleno:
- Profundidad de la neurona: es decir, distancia del

- 26 -

soma celular a la superficie cortical.

- Número de orden de la neurona: dentro del fichero.

Fueron almacenados en una memoria del ordenador de ficheros con un total de 320 tallos apicales para cada corteza de estudio, lo que hace un total de 960 tallos estudiados.

F - Procesamiento de Datos.

Los datos organizados, como se ha descrito en el apartado anterior, fueron procesados según el siguiente programa FORTRAN:

Programa TOCAP:

Este programa se ha utilizado para calcular la variable "Número de Espinas/Neuroma", 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:

- 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 tallo apical.

- Basándose en la profundidad del soma neuronal y en el espesor cortical total en este punto, el ordenador selecciona solamente aquellas neuromas que cumplen dos requisitos:

a) que su soma esté contenido en la capa de estudio correcta.

b) tener el tallo apical completo. Tomados como tal, aquellos que llegan hasta una distancia de $1/4$ del espesor total de la corteza cerebral.

- 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:

- Media 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 neuromas y espesor medio de la corteza.

- El ordenador puede recibir como datos a analizar, los

correspondientes a un fichero o dos ficheros completos.

- Si se le suministra un sólo fichero de datos, calcula los valores de las variables antes descritas pidiendo un nuevo estudio.
- En caso de serle suministrado 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 por los dos grupos de datos, diciendo si ha encontrado o no la diferencia estadísticamente significativa y a qué nivel entre ellos (Figura 6).
- A continuación calcula las diferencias porcentuales y absolutas (entre los segmentos del tallo apical corresp.) de los Números Medios de espinas por segmento de 50 μ entre los dos ficheros introducidos, dando la distribución de las diferencias porcentuales en una gráfica (véase figura 7) y las diferencias absolutas a la derecha numéricamente. Además calcula la estadística de cada valor obtenido.

Un programa adicional del sistema, ofrecía la distribución del Número Medio de espinas por segmento de 50 μ a lo lar

AREA DE ESTUDIO? SOMATOSENSORIAL

NUMERO DE GRUPOS? = 3

CAPA DEL SOMA? = 5

GRUPO CONTROL = *M120X1.CS1

RATAS ANALIZADAS MO 63 64 65 66
NT= 19 NEC= 19 NC= 18 NIN= 1
LONG. MED. NC= 650.0 DS= 95.5 VAR= 9117.6
ESPINAS/NEURONA= 391. DS= 89. VAR= 7980.
ESPINAS/MICRA= 0.680 DS= 0.129 VAR= 0.017
LONG. MED. NIN= 450.0 DS= 0.0 VAR= 0.0
ESP. CORTEZA= 1522.9 DS= 140.5 VAR= 19734.2

GRUPO EXP. = *M120X9.CS1

RATAS ANALIZADAS MO 67 68 70 71 72
NT= 20 NEC= 20 NC= 20 NIN= 0
LONG. MED. NC= 622.5 DS= 69.7 VAR= 4861.8
ESPINAS/NEURONA= 303. DS= 81. VAR= 6542.
ESPINAS/MICRA= 0.444 DS= 0.118 VAR= 0.014
NINGUNA NEURONA INCOMPLETA
ESP. CORTEZA= 1556.3 DS= 63.8 VAR= 4070.7

T ESPESOR= 0.963 D. F.= 37 P < 0.000

T ESPINAS= 3.188 D. F.= 36 P < 0.005

T ESP/MIC= 5.897 D. F.= 36 P < 0.005

PAUSE --

FIGURA 6 - Resultados del procesamiento de dos ficheros de datos por el programa TO CAP(Part. 1).

29

ESTUDIO DIFERENCIA RELATIVA EN
RELACION CON DISTANCIA AL SOMA

GRUPO CONTROL M120X1.CS1 GRUPO EXP. M120X9.CS1

VMGC	FLGC	VMGE	FLGE	%	FLZ	X 0	25	50	75	100	DIF	TDIF	FDIF	GL
1.8	0.5	1.7	0.9	0.05	0.16	25	I	I	I	I	0.1	0.18	0.000	37
12.1	2.8	9.7	3.0	0.20	0.11	75	I	I	I	I	2.4	1.20	0.000	37
26.9	3.5	18.1	4.1	0.33	0.09	125	I	I	I	I	8.7	3.40	0.005	37
36.2	4.1	26.6	3.8	0.26	0.07	175	I	I	I	I	9.6	3.57	0.005	37
38.7	3.8	29.3	4.2	0.24	0.07	225	I	I	I	I	9.4	3.48	0.005	37
36.9	4.3	30.8	4.2	0.17	0.06	275	I	I	I	I	6.1	2.14	0.025	37
37.7	5.2	31.5	4.0	0.17	0.06	325	I	I	I	I	6.2	1.99	0.050	37
38.0	4.0	29.1	4.3	0.23	0.07	375	I	I	I	I	8.9	3.14	0.005	37
34.2	3.7	31.2	4.3	0.09	0.05	425	I	I	I	I	2.9	1.07	0.000	37
33.4	4.1	30.5	4.1	0.09	0.05	475	I	I	I	I	2.9	1.05	0.000	35
33.6	4.7	28.4	3.7	0.16	0.06	525	I	I	I	I	5.3	1.87	0.050	33
33.7	5.0	26.9	4.6	0.20	0.07	575	I	I	I	I	4.8	2.14	0.025	26
29.3	5.8	24.3	5.4	0.17	0.07	625	I	I	I	I	5.0	1.41	0.000	18
27.8	5.4	21.0	7.9	0.24	0.08	675	I	I	I	I	6.8	1.74	0.000	12

GISQ= 17.424 P< 0.000

AREA DE ESTUDIO?

FIGURA 7 - Resultados del procesamiento de dos ficheros de datos por el programa TO CAP (Part. 2).

00

- 31 -

go del tallo apical, arrojando igualmente para cada valor la Estadística normal.

RESULTADOS

RESULTADOS:

Las variables elegidas para el presente estudio y en cuyos resultados basamos las conclusiones finales del trabajo han sido:

A - Número medio de espinas por tallo apical de las neuronas piramidales de la capa V de las distintas áreas corticales estudiadas: *Area visual (CV)*, *Area Motora (CM)* y *Area Somestésica (CS)*.

B - Distribución de la diferencia entre el número medio de espinas por segmento de 50μ , considerado a lo largo de los tallos apicales de neuronas pertenecientes a animales de una edad dada y las pertenecientes a la edad de partida de la condición considerada.

Los resultados obtenidos del estudio de estas variables han sido divididos, para su exposición, de acuerdo con los tres tipos de experimentos que componen este trabajo de Tesis y que se refieren respectivamente, al estudio:

I) - Del efecto que la restricción de movimiento desde los 20 días de edad tiene sobre el desarrollo de la Corteza Cerebral de la rata.

II) - Del efecto que en este desarrollo cortical produce la restricción de movimiento, cuando esta se produce desde los 40 y 80 días de edad, y

III) - Del posible efecto que la liberación de movimientos tiene en la recuperación cortical cuando esta liberación se efectúa a los 40 y 80 días de edad, en animales cuyos movimientos han sido restringidos a los 20 días de edad.

En las gráficas quedan representadas mediante asteriscos las diferencias estadísticamente significativas encontradas, haciendo uso del test de "t" de *Student*, entre dos condiciones dadas:

- * significa: $P < 0.05$
- ** significa: $P < 0.025$
- *** significa: $P < 0.005$

Las diferencias altamente significativas, $P < 0.001$ ó superiores no se han consignado por considerarse evidentes.

Las diferencias no significativas se han consignado como N.S.

I- Efecto que la restricción de movimientos desde los 20 días de edad tiene en el desarrollo de la Corteza Cerebral de la rata.

I.1) - Número medio de espinas por neuroma (figura 8, a, b, c).

Como quedó explicado en "Material y Métodos" es-

ta variable es una buena representación de la variación, durante el desarrollo del número de sinapsis en la corteza cerebral.

Corteza visual.

La corteza cerebral de los animales controles (figura 8, a) presenta un patrón global de crecimiento sináptico caracterizado por un rápido aumento en el número de espinas por tallo apical hasta los 40 días de edad, crecimiento que se estabiliza a esta edad y que origina un "plataforma" hasta los 120 días.

En la corteza visual de los animales sometidos a restricción de movimiento desde los 20 días de edad, este patrón de crecimiento se ve alterado a partir de los 30 días (10 días después de la restricción), de forma que a los 40 días, la diferencia entre los números medios de espinas por tallo apical de neuronas pertenecientes a animales restringidos respecto a controles es ya altamente significativa ($P < 0.005$). Esta diferencia aumenta debido a un ulterior descenso en el número de espinas que se estabiliza a los 80 días.

Corteza motora.

El patrón global de crecimiento sináptico es distinto (figura 8, b) respecto de la visual.

En este área ya desde los 20 días se produce un fuerte crecimiento global que continúa hasta los 80 días, edad a partir de la cual el crecimiento para, estabilizándose el número medio de espinas por tallo apical.

La restricción de movimiento afecta este área de una manera más intensa que la visual, iniciándose el efecto de la restricción de movimiento a los 20 días, esto es, desde el mismo momento en que el animal es sometido a restricción y diez días antes que en el área visual. Este resultado, por otra parte es coherente con la significación funcional atribuida a este área cortical.

Corteza somatosensorial.

En este área cortical (Figura 8,c) no se inicia un fuerte crecimiento en el número medio de espinas hasta los 30 días, edad a partir de la cual se intensifica el crecimiento de espinas hasta los 80 días de edad. A partir de esta edad y hasta los 120 días, se observa un fenómeno de depresión, tan solo encontrado en este área cortical y confirmado por resultados posteriores obtenidos en esta misma tesis.

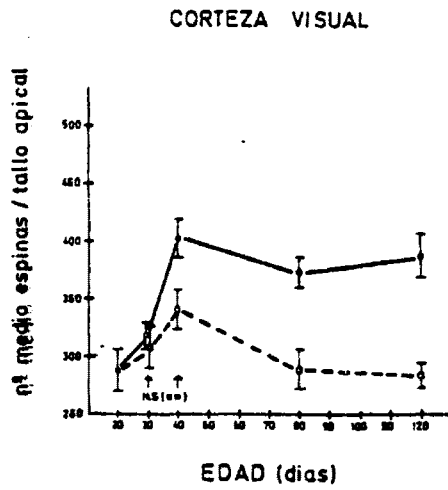
Los efectos de la restricción de movimiento se inician en este área más tardíamente que en el área motora, comenzando a partir de los 40 días de edad. A partir de los 80 días se registra el mismo fenómeno de depresión anteriormente descrito

en controles, quedando debido a él muy deprimida este área .
a los 120 días de edad.

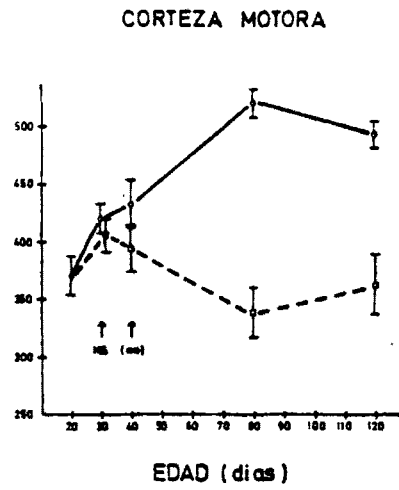
Estos resultados confirman nuestra conclusión anterior (Tesina) por lo que respecta al CV y CM y demuestran también la plasticidad del CS a la situación experimental de restricción de movimiento.

De otro lado nos descubren también un peculiar comportamiento del cortex somatosensorial que apuntaría a un proceso intrínseco de dicho cortex de pérdida de funcionalidad con la edad. Un trabajo reciente de J.P. Donoghue y col. (1979) ha descubierto que parte del cortex motor y del cortex somatosensorial de la rata se solapan. Pensamos que una explicación coherente de la depresión del CS a partir de 80 días, puede ser una pérdida de funcionalidad intrínsecamente programada de la zona no superpuesta del CS (zona en la que se han contado las espinas) quedando dicha funcionalidad cubierta por la parte solapada en el CM, en donde se concentrarían las aferencias específicas visuales del CS. Esta explicación viene apoyada por el ligero aumento de espinas que experimenta el CM en situación de restricción a partir de 80 días.

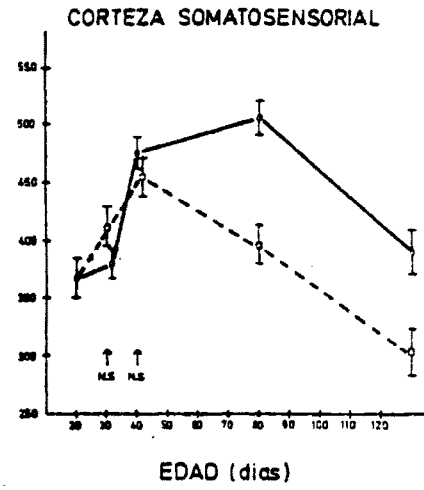
○ — CONTROLES
 □ -- RESTRINGIDOS DESDE 20 D.



Grafica (a)



Grafica (b)



Grafica (c)

FIGURA 8 - Evolución del N° MEDIO DE ESPINAS/TALLO APICAL con la edad en animales controles y con movimiento restringidos desde los 20 d. en las tres áreas corticales estudiadas.

I.2) - Distribución del número medio de espinas por segmento de 50 μ a lo largo del Tallo Apical y Distribución de la Diferencia absoluta en el número medio de espinas por segmento de 50 μ respecto a 20 días de edad.

Aunque el estudio de la distribución de espinas a lo largo de los tallos apicales (Valverde, Ruiz Marcos, 1969) ha sido probado como un potente medio de trabajo para estudiar la influencia de distintas situaciones carenciales (Ruiz Marcos y Valverde, 1970) o patológicas (Ruiz Marcos y col 1979, Ruiz Marcos y col, 1980) tiene sobre el desarrollo de la Corteza Cerebral, dado el carácter específico de esta Tesis, de estudio del efecto de la restricción sobre el desarrollo de distintas áreas corticales, además de realizar el estudio de la distribución de espinas a lo largo de los Tallos Apicales, hemos visto conveniente realizar el estudio de la distribución de las Diferencias absolutas del número medio de espinas en cada segmento de 50 μ respecto del que tenía en el momento de someter al animal a la situación experimental específica, lo cual no solo nos da un índice de la influencia de esta situación, sino que nos permite valorarla comparativamente en las tres áreas corticales estudiadas, ya que la variable así creada, toma como medida el nivel de partida de cada condición. Además nos permite investigar la incidencia que la situación experimental tiene a nivel de las distintas capas de la corteza en las áreas estudiadas.

Corteza Visual.

La figura 9,a y b, muestra la evolución de las distribuciones de espinas con la edad tanto en controles como en restringidos; en estos últimos puede observarse claramente la paralización de crecimiento(Fig. 9,b).

En la figura 10,a se puede observar la variación - que experimenta el incremento del número medio de espinas a lo largo de la Corteza durante el desarrollo, observándose se que entre 20 y 30 días el desarrollo es importante en - la capa IV.

Entre 30 y 40 días, la participación más importante al crecimiento se efectúa en las capas III y II. A partir de entonces, se pueden observar fenómenos de reestructuración, que afecta sobre todo a las partes superiores - del tallo apical.

Esto indica que la Corteza Visual se ve afectada - paulatinamente desde las capas más profundas a las más superficiales: entre los 20 y 30 días se afecta la capa IV y entre los 30 y 80 la III y entre 80 y 120 la II.

En los animales sometidos a restricción de movimiento este patrón se halla profundamente alterado(Figura 10,b). El crecimiento inicial en la capa IV no se ha producido, fa

CORTEZA VISUAL

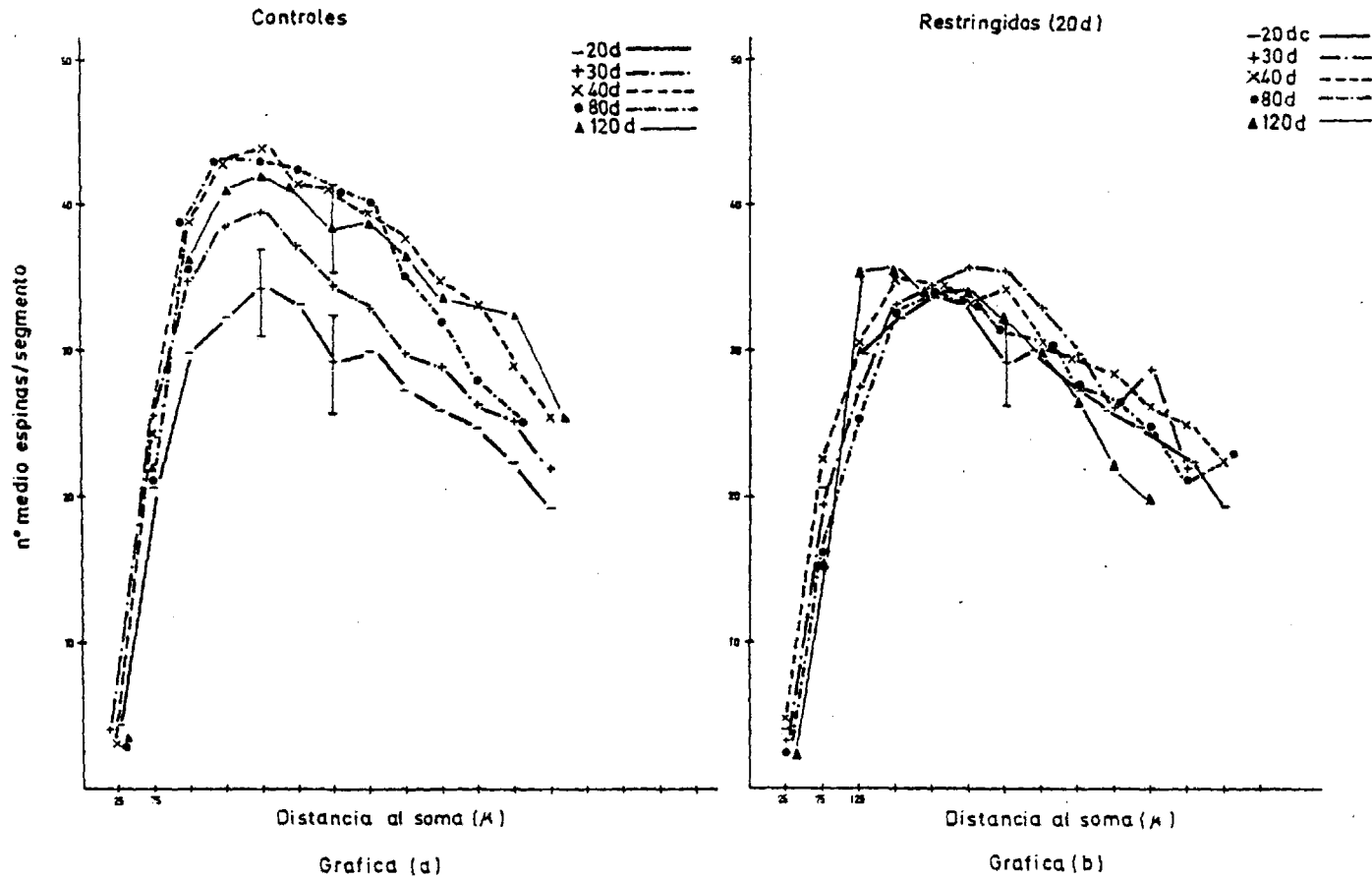


FIGURA 9 - Evolución de la distribución del N° MEDIO DE ESPINAS/SEGMENTO de 50. de tallo apical en la CORTEZA VISUAL de animales controles y Restringidos de movimiento desde los 20 días.

11

llando posteriormente la intervención de las restantes capas, perdiéndose incluso entre 40 y 80 el pequeño incremento inicial localizado en la base de la capa III.

Corteza motora.

La Figura 11, a y b, muestra los resultados obtenidos.

La Figura(12,a)muestra cómo el CM crece en controles hasta 80 días en todas las capas y a partir de esa edad hasta 120, pierde espinas principalmente la capa IV y parte inicial de la III.

Se inicia pues un crecimiento que va implicando desde la parte inferior de la neurona hasta la superior, hasta 80 días.

En animales restringidos desde los 20(Figura 12,b), esto no se da en absoluto, ya que el crecimiento desaparece a los 30 días en las capas IV y V. A los 40 días se inicia un proceso de depresión general hasta los 80 días, edad a partir de la cual hay una ligera recuperación general a lo largo de todo el tallo.

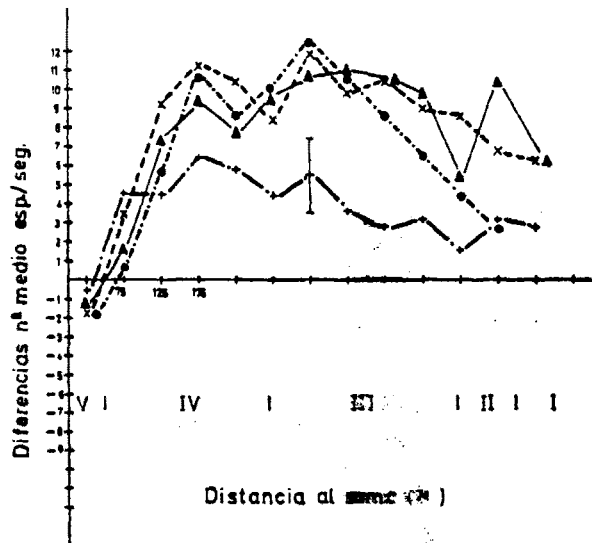
CORTEZA VISUAL

CONTROLES

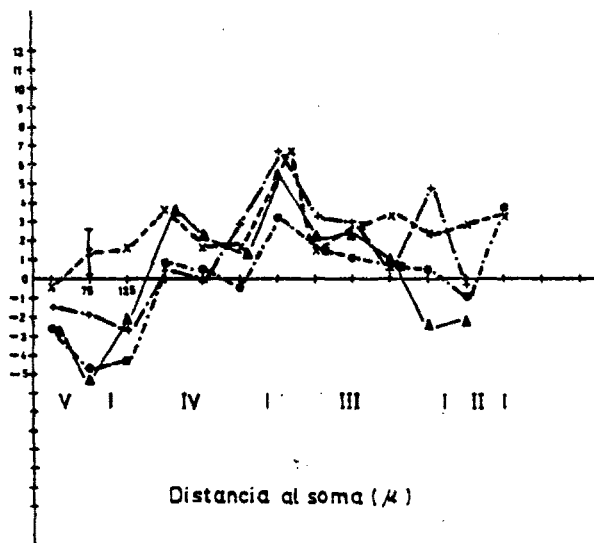
RESTRINGIDOS (20d)

+ 30d - 20d ———
 x 40d - 20d - - - -
 • 80d - 20d - · - · -
 ▲ 120d - 20d ———

+ 30d - 20d ———
 x 40d - 20d - - - -
 • 80d - 20d - · - · -
 ▲ 120d - 20d ———



Grafica (c)



Grafica (d)

FIGURA 10 - Distribución de las DIFERENCIAS en el N° MEDIO de ESPINAS/SEGMENTO de 50µ de tallo apical respecto a 20 días en la CORTEZA VISUAL de animales Controles y Restringidos de movimiento desde los 20 días.

43

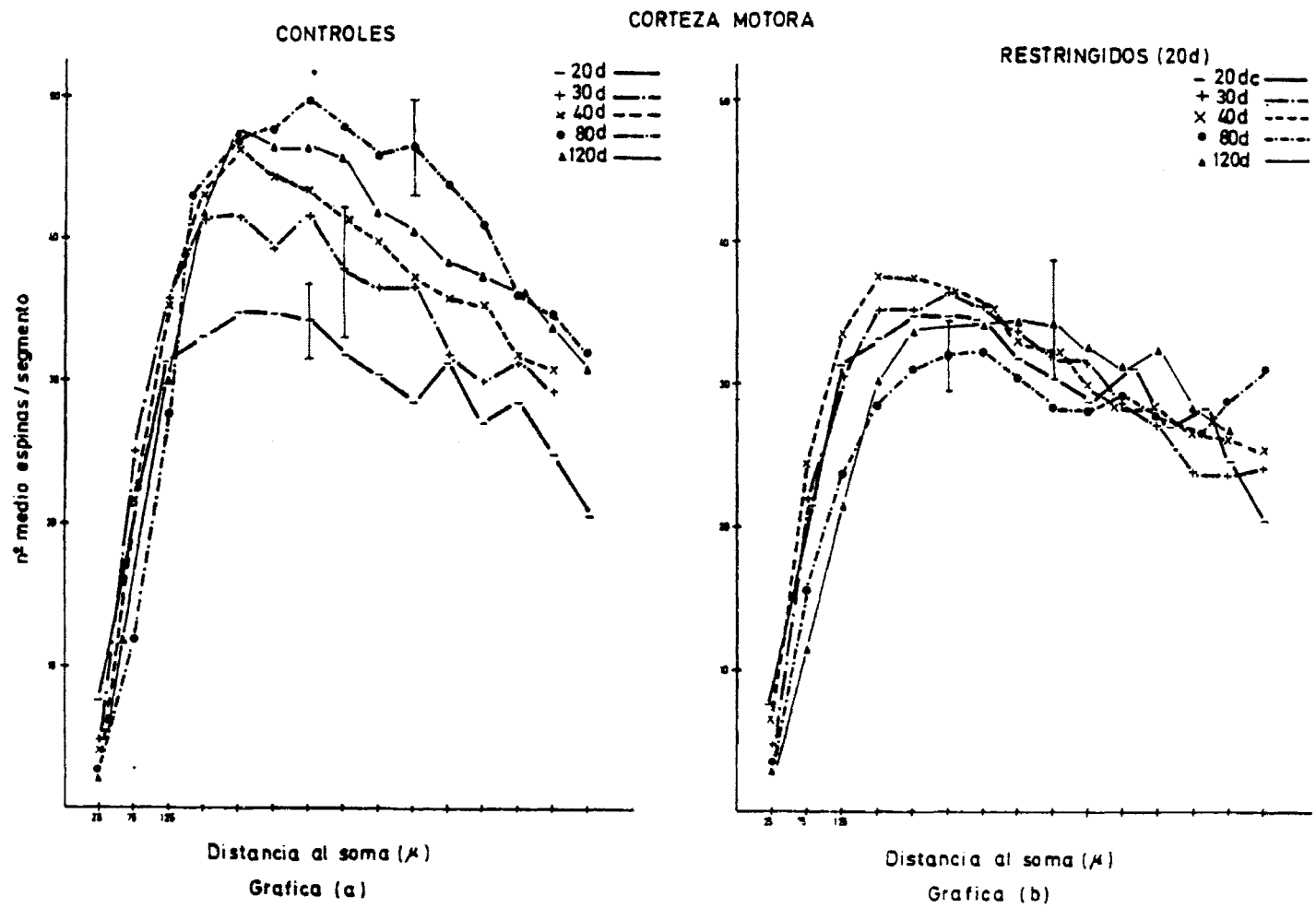
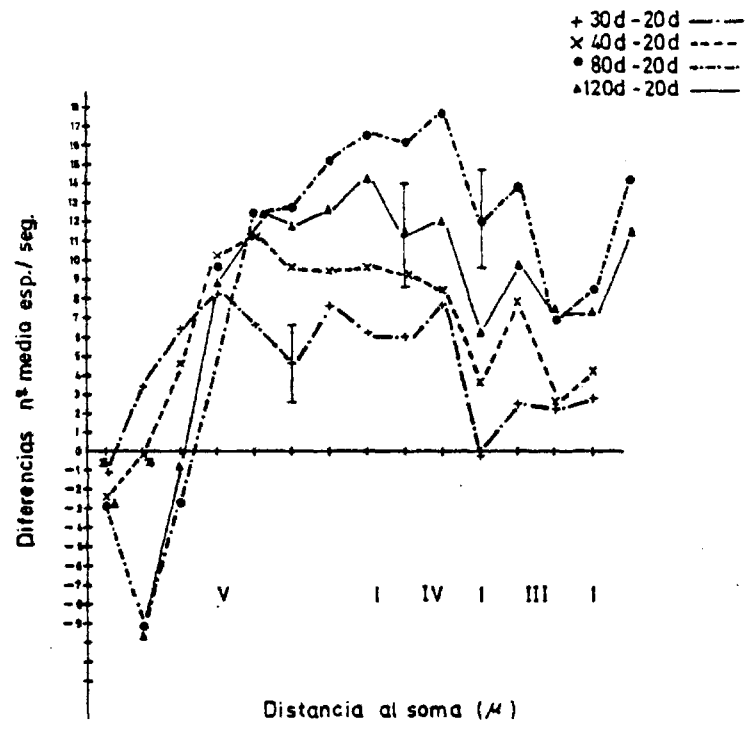


FIGURA 11 - Evolución de la distribución del N. MEDIO DE ESPINAS POR SEGMENTO DE CILIO APICAL con la edad en la CORTEZA MOTORA en animales control (a) y restringidos de movimiento desde los 20 días.

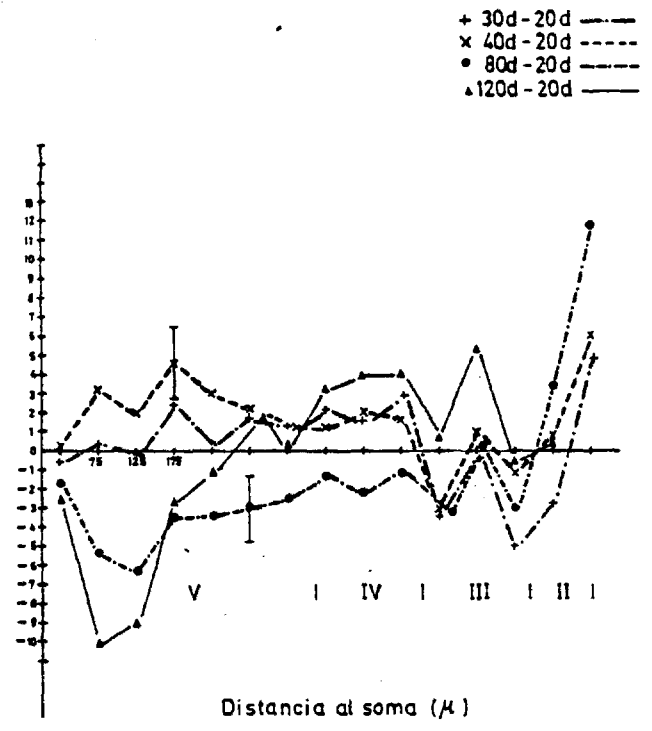
CORTEZA MOTORA

CONTROLES

RESTRINGIDOS (20d)



Grafica (c)



Grafica (d)

FIGURA 12 - Evolución de la distribución de las DIFERENCIAS en el N° MEDIO DE ESPINAS/SEGMENTO de tallo apical respecto a los 20 días con la edad en la CORTEZA MOTORA en animales Controles y Restringidos de movimiento desde los 20 días.

45

Corteza somatosensorial.

En las gráficas que muestran las distribuciones se ve claramente la depresión característica de esta corteza entre 80 y 120 días, tanto en controles como en restringidos (Figura 13,a y b).

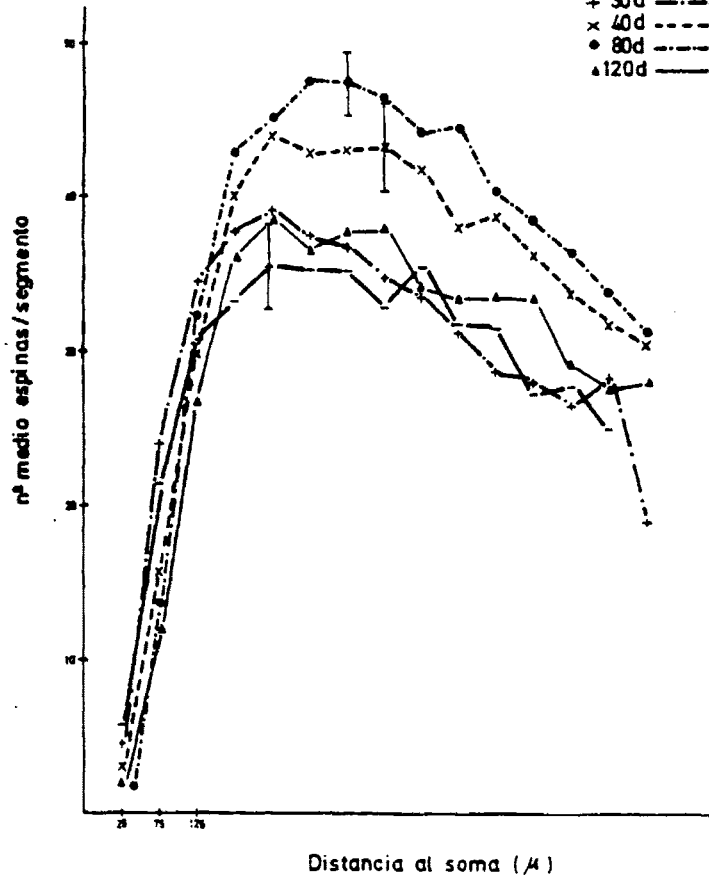
La topografía del desarrollo observada en controles (Figura 14,a) nos muestra que el CS, al igual que en el CM, hay un proceso de progresiva contribución al crecimiento desde la capa V hasta la III, aunque aquí, si en un principio es la V la que aumenta algo, y el resto apenas varía o incluso disminuye (III), entre 30 y 40 días la génesis de sinapsos se concreta en las superiores: fuertemente primero en la III y luego en la IV, y a partir de 80 días hay una disminución generalizada que afecta sobre todo a la capa IV.

En animales con movimientos restringidos (Fig.14,b), el crecimiento continúa hasta los 40 días. A partir de esa edad se inicia un descenso generalizado hasta los 120 días; entre 80 y 120 días, también como en controles es la capa IV la más deprimida.

CORTEZA SOMATOSENSORIAL

CONTROLES

- 20d —
 + 30d —
 x 40d —
 • 80d —
 ▲ 120d —



Distancia al soma (μ)

Grafica (a)

RESTRINGIDOS (20d)

- 20dc —
 + 30dc —
 x 40dc —
 • 80dc —
 ▲ 120dc —



Distancia al soma (μ)

Grafica (b)

FIGURA 13 - Evolución de la distribución del Nº MEDIO DE ESPINAS/SEGMENTO de tallo apical con la edad en la CORTEZA SOMATOSENSORIAL de animales Controles y Restringidos de movimiento desde los 20 días.

CORTEZA SOMATOSENSORIAL

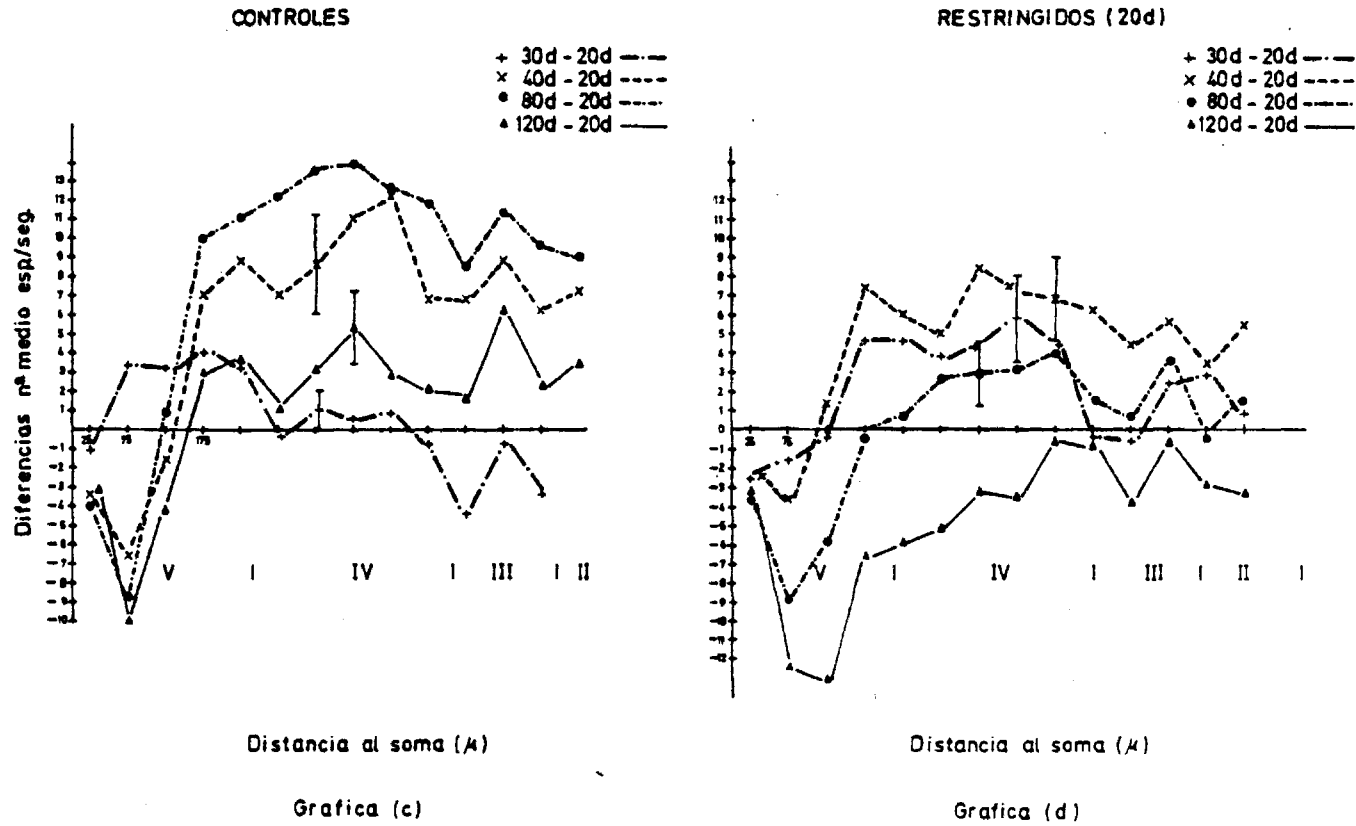


FIGURA 14 - Evolución de la distribución de las DIFERENCIAS en el N° MEDIO de ESPINAS/SEGMENTO de tallo apical respecto a los 20 días con la edad en la CORTEZA SOMATOSENSORIAL de animales Controles y Restringidos de movimiento desde los 20 días.

I.3) - Conclusiones Parciales que se Obtienen de estos resultados.

1) - Animales controles.

CV - El desarrollo es fuerte de los 20 a los 40 días, permaneciendo estable a partir de esa edad.

CM - El desarrollo es claramente distinto de la CV en el sentido de que A) crece paulatinamente desde 20 a 80, B) desde 80 comienza un proceso degenerativo espontáneo.

CS - Comienza a desarrollarse de forma más - lenta que las otras dos y como en la Motora, el proceso degenerativo comienza a los 80 días siendo más fuerte que en ésta.

2) - Animales Restringidos desde los 20 días.

CS - El efecto de la restricción se aprecia a partir de los 30 días, en que se inicia una parada general de la simaptogénesis.

CM - El efecto de la restricción comienza a partir de los 20 días, observándose un cierto proceso degenerativo ulterior - entre los 40-80 días y una posterior - recuperación.

CS - El efecto de la restricción comienza a partir de los 30 días, como en la visual, pero contrariamente a lo que ocurre en aquella área cortical, hay un proceso - degenerativo que comienza a los 40 días y continúa hasta los 120 días, edad en que se alcanzan niveles inferiores a - los 20 días.

De las gráficas de distribuciones y su elaboración en - gráficas de diferencias, se observa que hay un cierto patrón de crecimiento tal, que la zona central crece más que las laterales en CV, más acusado en CM y distinto en CS.

Controles:

CV) - a) - El desarrollo pasa a los 40 días y se mantiene hasta por lo menos los 120 días.

b) - La forma de las diferencias indican que hay un patrón de crecimiento que se mantiene constante con la edad.

CM) - a) - El desarrollo no para a los 40 días; continúa hasta los 80 y decrece hasta los 120.

b) - La forma de las diferencias indica que hay un patrón de crecimiento constante con la edad, de tal forma que crecen más las capas profundas que las superficiales.

CS) - a) - El desarrollo es análogo al de la Motora, o sea, no para a los 40 días e incluso la regresión que comienza a los 80 días es más fuerte que en la Motora.

b) - Las normas de diferencias indican que el patrón de crecimiento se conserva con la edad y a diferencia de CM, van creciendo más las capas superficiales.

Restricción(20 d):

CV) - a) - La restricción afecta de 20 a 30 días más a las capas profundas que a las superficiales.

b) - De 30 a 40 días hay una recuperación parcial de las capas profundas, manteniéndose constante el resto, pauta que se mantiene a lo largo de las edades estudiadas, excepto una recuperación parcial en capas profundas a los

40 días, a la cual, dado lo bajo de la significación obtenida en la comparación, no se le concede importancia decisiva, pudiéndose afirmarse que la afectación debida a la restricción es ligeramente superior en las capas profundas que en las superficiales.

CM) - Se observa una parada en el desarrollo entre 20 y 30 días, que se mantiene hasta los 40 días, decreciendo globalmente entre los 40 y 80 días, con una fuerte recuperación de las capas IV, III y II y parte de la V, recuperación que coincide con la mayor depresión observada en la CS.

CS) - La restricción no ha afectado el desarrollo de una manera tan fuerte como en Motora, continúa creciendo hasta 40 días, momento en el que se produce una depresión global posiblemente a expensas de la recuperación observada en el área motora (Ruiz Marcos y Valverde, 1970). La similitud en la forma de las curvas indica que la depresión a partir de 40 días, es homogénea a lo largo de todo el tallo, o sea, a lo largo de la corteza.

II - Efecto de la restricción de movimiento desde los 40 y 80 días sobre el desarrollo de la corteza cerebral.

II.1 - Número medio de espinas por neuroma (Fig.15,a,b,c).

Se ha representado esta variable sobre la gráfica correspondiente al anterior experimento y de este modo obtener una percepción comparada de resultados.

Corteza visual (Fig.15,a)

Esta corteza responde rápida e intensamente - al efecto de restricción a ambas edades, con más intensidad incluso en la edad de 40 días, alcanzando a los 80 días niveles inferiores a los que tenían animales restringidos desde los 20 días,

Corteza Motora (Fig. 15,b)

Presenta un efecto evidente pero claramente - diferenciado entre 40 y 80 días. Mientras a los 40 - días la restricción detiene la sinaptogénesis, a los 80 días produce un gran efecto depresor que alcanza - los valores de las restricciones profundas.

- — CONTROLES
- - - - RESTRINGIDOS (20 d)
- - - - RESTRINGIDOS (40 y 80 d)

CORTEZA VISUAL

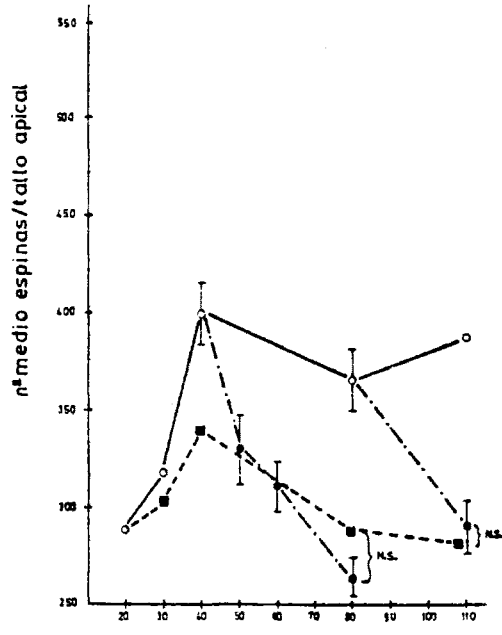
CORTEZA MOTORA

CORTEZA SOMATOSENSORIAL

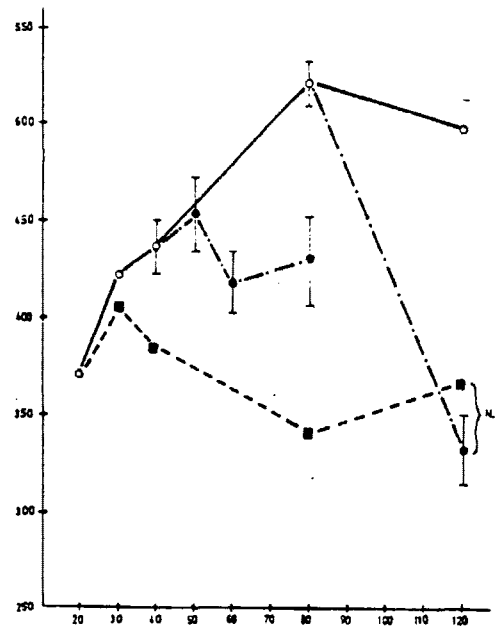
RESTRINGIDOS (desde 40 y 80 días)

RESTRINGIDOS (desde 40 y 80 días)

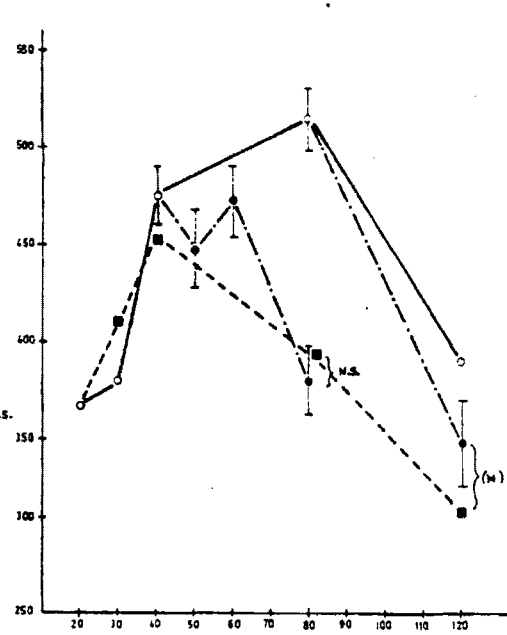
RESTRINGIDOS (desde 40 y 80 días)



EDAD (días)
Grafica (a)



EDAD (días)
Grafica (b)



EDAD (días)
Grafica (c)

FIGURA 15 - Evolución con la edad del Nº MEDIO de ESPINAS/TALLO APICAL en animales restringidos de movimiento a los 40 y 80 días de edad en las tres áreas corticales estudiadas.

Corteza Somatosensorial (Fig.15,c).

La restricción a los 40, aunque paraliza la sinaptogénesis, no parece deprimir hasta pasados los 60 días, alcanzándose a los 80 los valores de las restricciones profundas. A los 80 días, el efecto depresor también se registra, aunque no se alcanza el nivel de los restringidos profundos.

En estos experimentos de restricción desde los 40 y 80 días, se confirma la ausencia de "períodos límites" para la plasticidad del cortex; sin embargo, la afectación final varía, dependiendo de si las correspondientes cortezas se hallan, durante el experimento, en períodos de crecimiento o en períodos de estabilización.

Si la restricción adulta se sitúa en un período de aumento numérico de espinas, la situación experimental afecta parcialmente, pero si ocurre en períodos de estabilización, el efecto es más drástico.

Esta conclusión se verifica bien en CV, ya que incluso en este área donde hay cierto aumento a partir de 80 días, el efecto de restricción no es tan intenso como a los 40.

También el CM presenta el fenómeno descrito.

El CS no se ajusta tanto a este comportamiento; pensamos que esto se debe a que la sinaptogénesis continuaría intensa hasta 60 días para luego descender a los 80. En cuanto a la restricción a 80, deberíamos esperar una depresión intensa que alcanzase a los restringidos profundos y no es así. Esto puede ser debido al solapamiento de la depresión cortical intrínsecamente programada con la situación experimental. La situación experimental no puede actuar deaferenciando el CS con intensidad, puesto que previamente ya hay una deaferenciación cortical intrínseca.

Pensamos que el efecto de la restricción de movimiento actúa sobre el número de espinas, disminuyendo la estimulación no específica necesaria para el crecimiento normal. Esta estimulación no específica sería importante para mantener las espinas en los períodos de crecimiento y por tanto, de aumento de la estimulación específica.

II.2 - Distribución del número medio de espinas por segmento de 50 μ a lo largo del Tallo Apical y Distribución de la Diferencia absoluta en el número medio de espinas por segmento de 50 μ respecto a los 40 y 80 días controles.

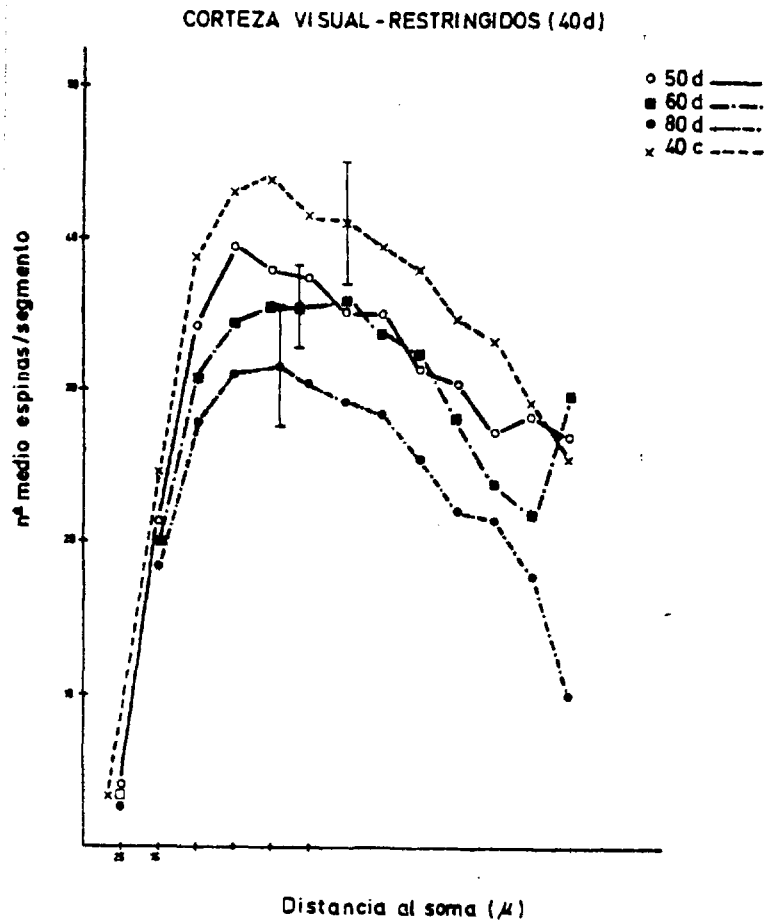
Corteza Visual.

La evolución de las distribuciones -

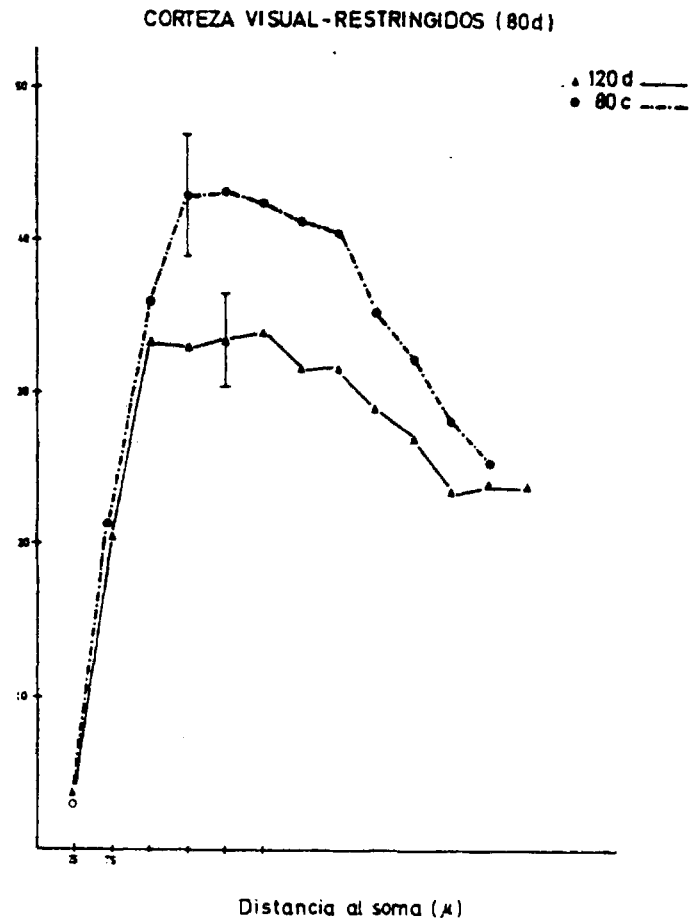
puede verse en las gráficas de la figura 16, a y b. En ellas también está consignada la distribución - control que es punto de partida del experimento.

La figura 17, a y b, muestra la evolución de las diferencias entre el número medio de espinas a lo largo del tallo apical a cada edad estudiada, respecto de la de partida del experimento, 40 y 80 días en este caso. Además, también se detallan las diferencias de las correspondientes edades finales control respecto a las de partida (40 y 80); esto permite conocer el patrón de evolución abandonado al colocar a los animales en situación experimental, o dicho de otro modo: la evolución que se registraría de haber continuado los animales en la situación de partida.

Lo más llamativo a destacar en la Figura 17, a y b, es que tanto desde 40 como desde 80 días, el efecto no parece poseer una especificidad topográfica sobre alguna capa, sino que la afección se registra a lo largo de todo el tallo, dando una distribución final de diferencias, prácticamente paralelas a la distribución control a 80 y 120 días. Esto nos indica que la restricción adulta incide sobre un patrón de espinas ya prefijado y que no abandona, de modo - que la privación de estimulación no específica afecta a la neurona piramidal globalmente.



Grafica (a)



Grafica (b)

FIGURA 16 - Evolución con la edad del N° MEDIO de ESPINAS/SEGMENTO de tallo apical en la CORTEZA VISUAL de animales restringidos de movimiento desde los 40 días y 80 días de edad.

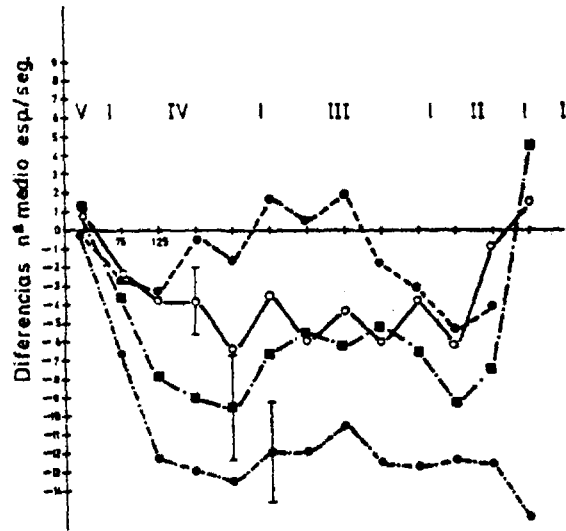
CORTEZA VISUAL

RESTRINGIDOS (40d)

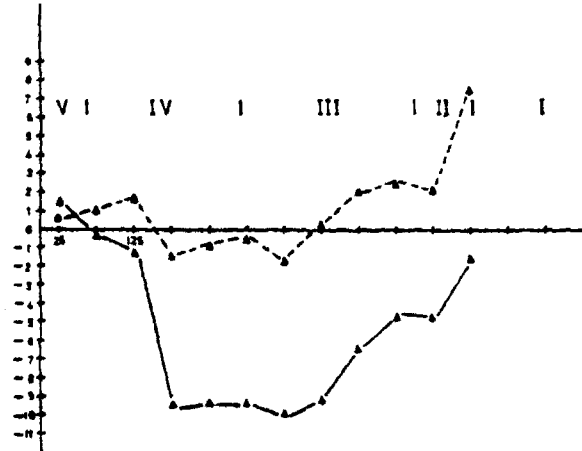
RESTRINGIDOS (80d)

- 50 d - 40dc ———
- 60 d - 40dc ———
- 80 d - 40dc ———
- 80 dc - 40dc - - - -

- ▲ 120 d - 80 dc ———
- ▲ 120 dc - 80 dc - - - -



Distancia al soma (μ)
Grafica (c)



Distancia al soma (μ)
Grafica (d)

FIGURA 17 - Evolución con la edad de las DIFERENCIAS en el N° MEDIO de ESPINAS/SEGMENTO de tallo apical respecto a los 40 y 80 días en la CORTEZA VISUAL de animales restringidos de movimiento desde los 40 y 80 días.

59

Corteza Motora.

Las distribuciones obtenidas se muestran en la Figura 18, a y b. Las diferencias halladas (Figura 19, a y b) muestran más acusadamente si cabe, el fenómeno descrito para la CV. Las distribuciones finales tanto en controles como en restringidos exhiben un fuerte paralelismo.

Si entre 40 y 80 días los procesos de sinaptogénesis se localizan preferentemente en las capas IV y III, éstas en la restricción resultan ser las menos deprimidas. Lo mismo entre 80 y 120, si a esa edad se produce un reajuste que afecta a la IV y III, en los restringidos, las diferencias mayores se alcanzan en dichas capas.

Corteza Somatosensorial. (Figuras 20 y 21).

Las figuras 20 y 21 muestran como en las áreas anteriormente descritas, la evolución de las distribuciones y las diferencias entre cada edad y la de partida.

Los resultados obtenidos son en todo similares a los obtenidos en el área motora.

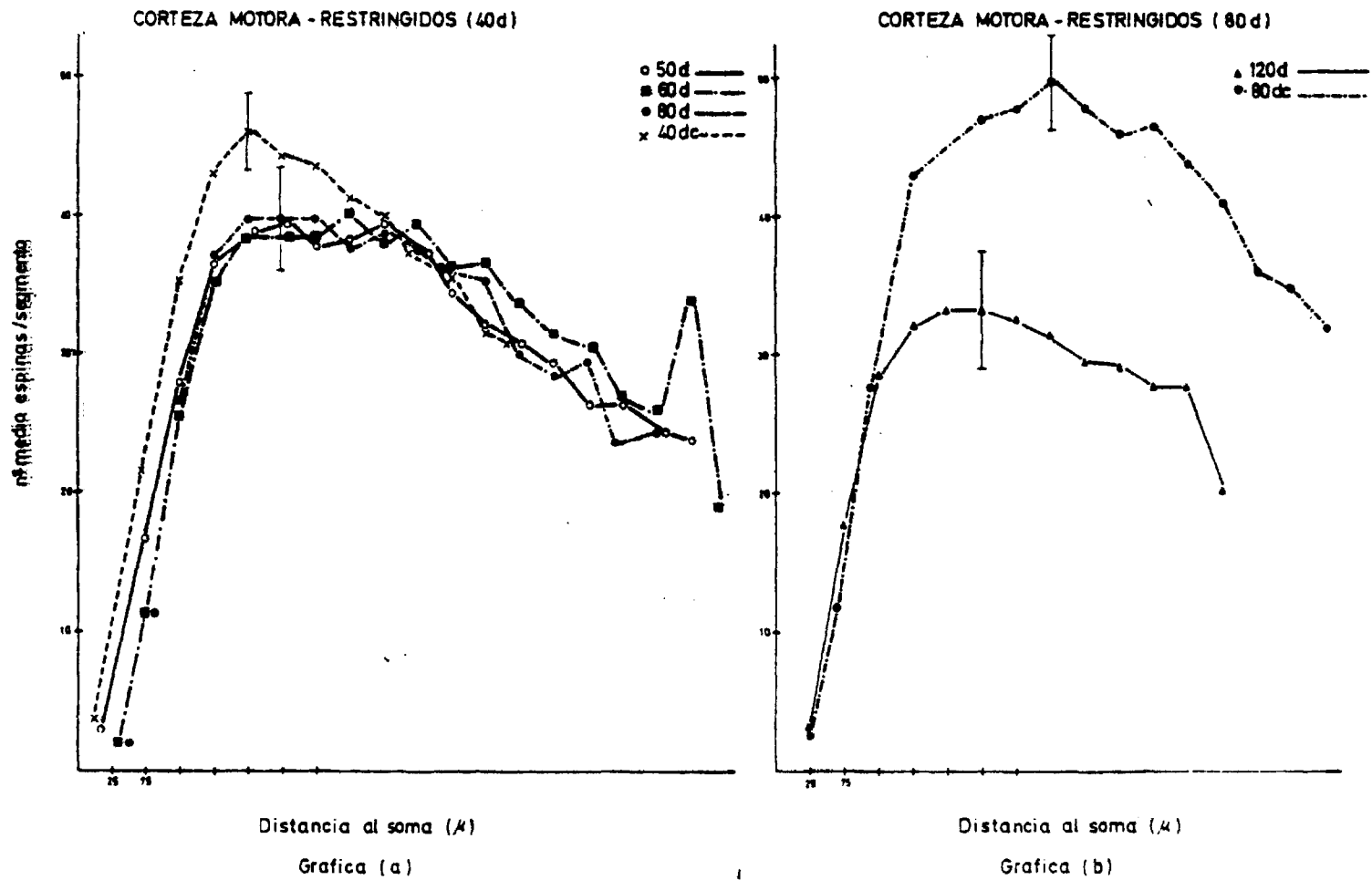
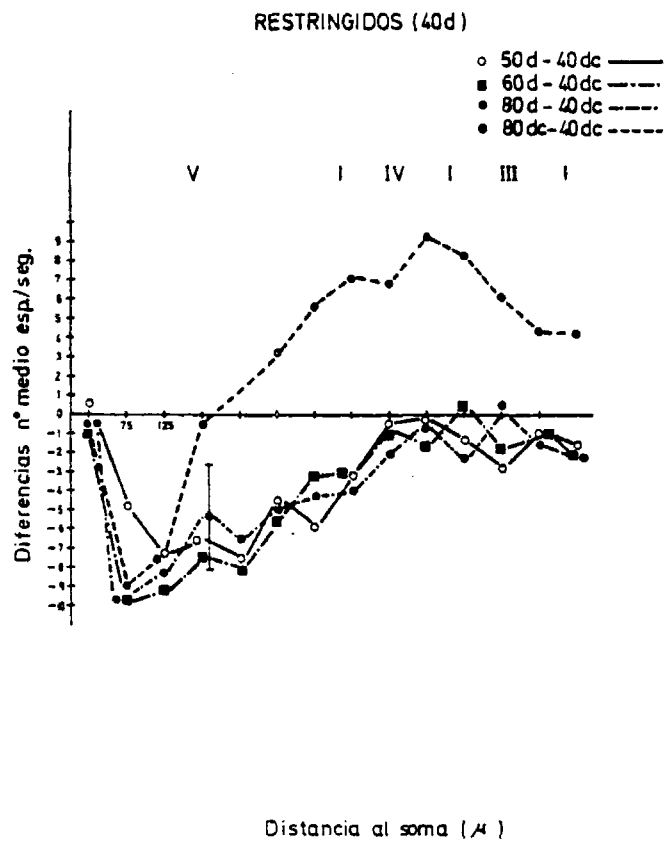


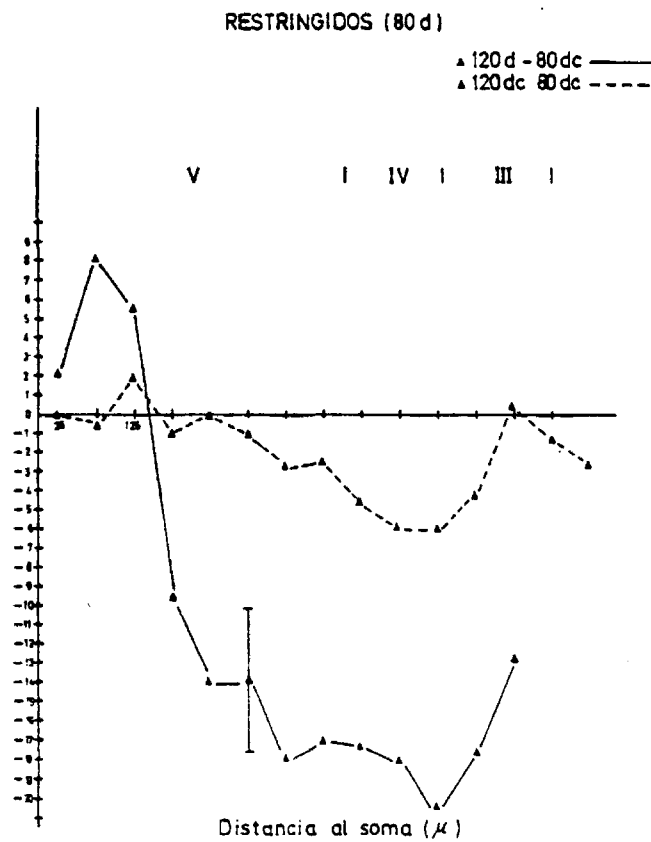
FIGURA 12 - Evolución en la edad del N° MEDIO de ESPINAS SEGMENT. de tallo apical en la CORTEZA motora de animales restringidos de movimiento desde los 40 y 80 días.

19

CORTEZA MOTORA



Grafica (c)

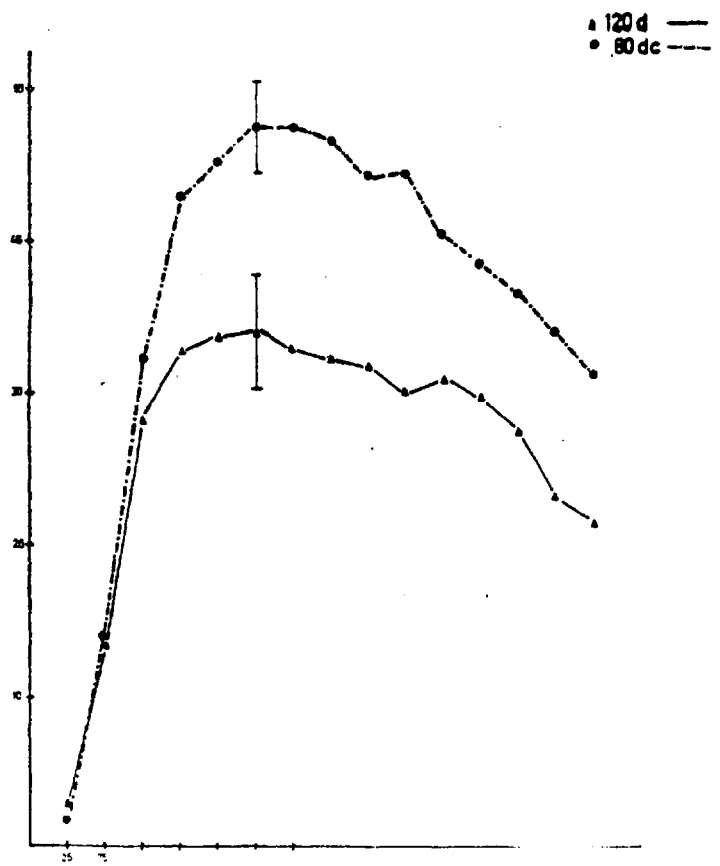
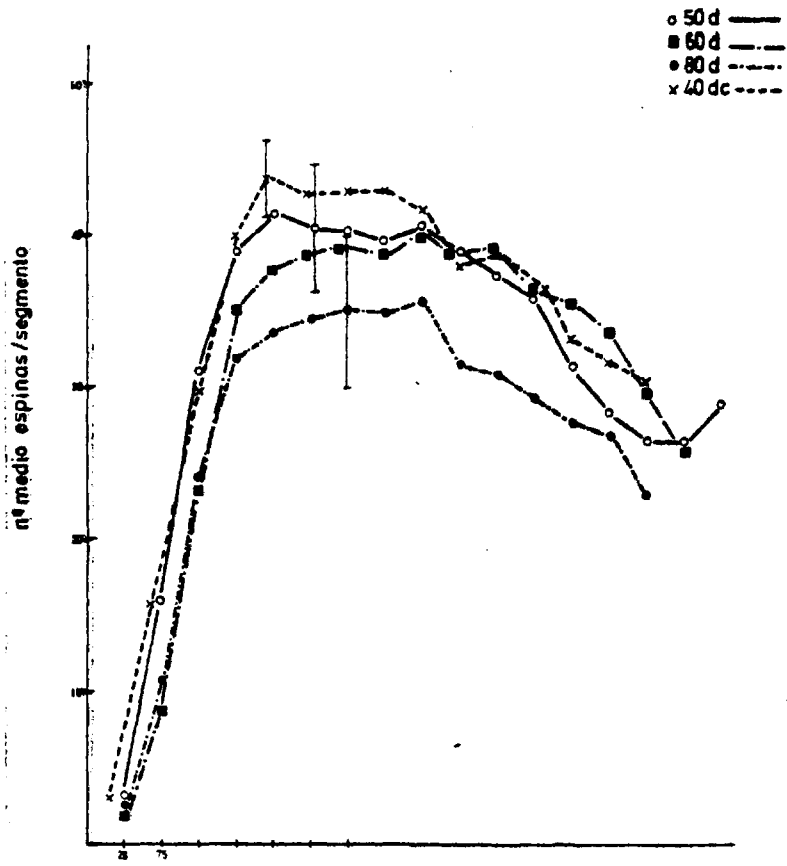


Grafica (d)

FIGURA 19 - Evolución con la edad de las DIFERENCIAS en el N° MEDIO de ESPINAS SEGMENTO de tallo apical respecto a los 40 y 80 días en la CORTEZA MOTORA, de animales restringidos de movimiento desde los 40 y 80 días.

CORTEZA SOMATOSENSORIAL - RESTRINGIDOS (40d)

CORTEZA SOMATOSENSORIAL - RESTRINGIDOS (80d)



Distancia al soma (µ)

Distancia al soma (µ)

Grafica (a)

Grafica (b)

FIGURA 20 - Evolución con la edad del N. MEDIO de ESPINAS SEGMENTO de tallo apical en la CORTEZA SOMATOSENSORIAL de animales restringidos de movimiento desde los 40

63

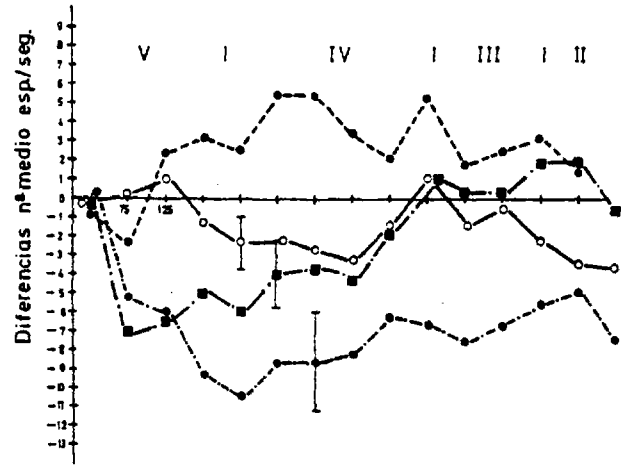
CORTEZA SOMATOSENSORIAL

RESTRINGIDOS (40d)

RESTRINGIDOS (80d)

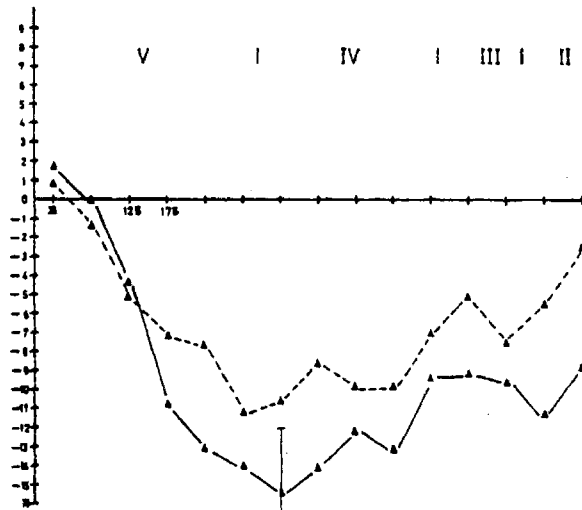
○ 50d - 40dc ———
 ■ 60d - 40dc ———
 ● 80d - 40dc ———
 ● 80dc - 40dc - - - -

▲ 120d - 80dc ———
 ▲ 120dc - 80dc - - - -



Distancia al soma (μ)

Grafica (c)



Distancia al soma ()

Grafica (d)

FIGURA 21 - Evolución con la edad de las DIFERENCIAS en el N° MEDIO de ESPINAS/SEGMENTO de tallo apical respecto a los 40 y 80 días en la CORTEZA SOMATOSENSORIAL, de animales restringidos de movimiento desde los 40 y 80 días.

64

II.3 - Conclusiones parciales que se obtienen de estos resultados.

- a) No existencia de "períodos límite" para encontrar plasticidad cortical (descenso en este caso) y por tanto necesidad del movimiento para mantener el nivel de sinapsis.
- b) Los procesos degenerativos que se producen cuando empieza la restricción, son independientes de los procesos de degeneración de sinapsis, ya que en la Visual, cuyo crecimiento termina a los 40 días, el efecto de la "restricción" a partir de esta edad es mucho más notable que en la Motora donde seguramente al mismo tiempo que desaparecen espinas por efecto de la inmovilidad, siguen creciendo debido al proceso de crecimiento endógeno del área.

Comparando con los restringidos desde 20 días, se ve que la estimulación no específica es esencial para el mantenimiento del nivel de espinas.

Del estudio de la CS se deduce que el proceso de generación continúa hasta 60 días, a cuya edad

se detiene, por ello el número de espinas de las neuronas de ratas puestas en restricción desde 40 días se mantiene hasta los 60 días, edad a partir de la cual comienza a decrecer hasta los niveles que alcanzan a los 80 días los animales restringidos desde los 20 días.

c) Tanto en los animales restringidos a los 40 como a los 80 días en las tres áreas corticales se observa una depresión en el número que aumenta con la edad y es fuerte en capas intermedias y profundas; esto no indica que haya un efecto selectivo, pues comparando las normas de diferencias con aquella a la que la neurona hubiera llegado de no someter a exp. se observa un paralelismo indicativo de que la depresión es global.

En el CM y CS se aprecia lo mismo, con la importante diferencia de que en la Motora se observa que la restricción a partir de los 40 días afecta al desarrollo. La depresión observada a los 50 días no progresa cuantitativamente con la edad. La comparación de estas gráficas con la que se obtiene de animales controles dan base para pensar que el decrecimiento en el número de espinas se produce paralelamente con la producción de las mismas.

III - Efecto de la liberación de animales en restricción a los 40 y 80 días.

III.1 - Número medio de espinas por neurona.

Corteza Visual.

La figura (22,a) muestra como el número medio de espinas de los animales puestos en libertad a los 40 días sufren una rápida recuperación entre 10 y 20 días después de haberse producido esta liberación llegando incluso a alcanzar el nivel de los controles a los 80 días. El número medio de espinas también se recupera cuando la liberación se produce a los 80 días, pero sin llegar a alcanzar los niveles controles a los 120 días.

Corteza Motora.

La figura (22,b) muestra como el número medio de espinas de neuronas corticales alcanzan los niveles controles a los diez días de libertad, en el subgrupo liberado a los 40. La recuperación a los 80 es sólo parcial, al igual que en el CV. »

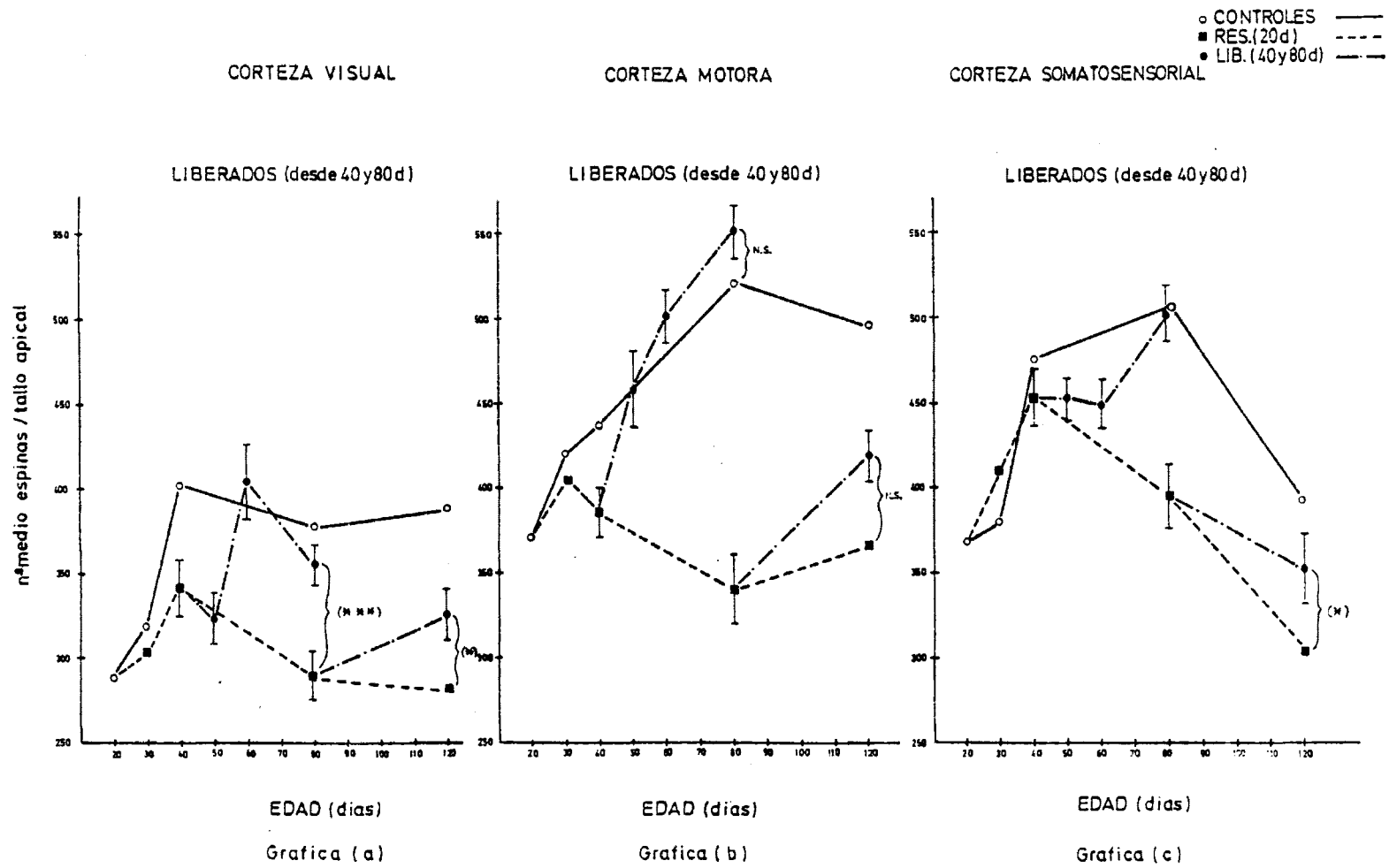


FIGURA 22 - Evolución con la edad del N° MEDIO de ESPINAS/TALLO APICAL en animales "liberados" de la "restricción" de movimiento a 40 y 80 días de edad en las tres áreas estudiadas.

Corteza Somatosensorial.

La figura (22,c) muestra como el número medio de espinas de neuronas en esta corteza recuperan su nivel normal a los 80 días llegando a coincidir con los controles. Igual que en las cortezas anteriores, en animales liberados a partir de 80 días también hay recuperación, aunque sólo parcial.

No parece pues haber "periodos críticos" pasados los cuales las cortezas no se recuperen, sin embargo, sí se observa un "periodo más plástico" - (entre 40 y 80 días) que entre 80 y 120 días en que la recuperación es menor.

III.2 - Distribución del número medio de espinas por segmento de 50 μ a lo largo del tallo Apical y Distribución de la diferencia absoluta en el número medio de espinas por segmento de 50 μ respecto a los 40 y 80 días --- restringidos(20 d).

Aquí, a diferencia del experimento anterior, las distribuciones de partida son de animales en restricción desde los 20, 40 y 80 días; y al igual que en experimento II y a fin de estudiar si hay un patrón diferencia que se conserva, se consigna las

diferencias respecto al número de espinas de animales de 40 y 80 días, restringidos desde los 20 días.

Corteza Visual.

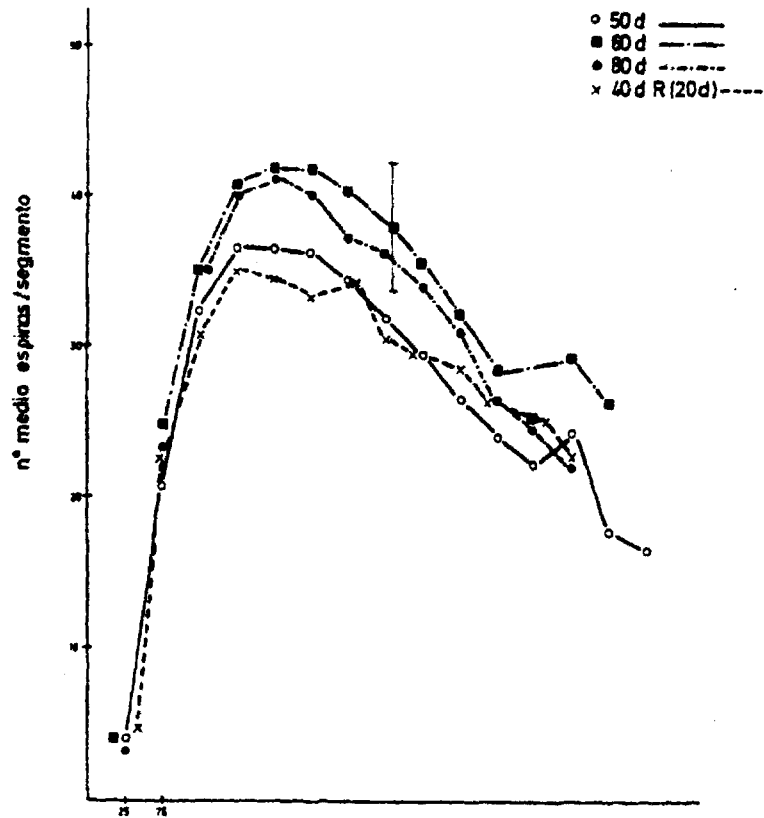
Las distribuciones obtenidas vienen dadas en la figura (23 a y b). También se respeta muy bien un patrón de incremento a lo largo de todo el tallo, reajustándose finalmente y como ocurre en controles a nivel de la capa II principalmente. No obstante la distribución final, un paralelismo grande con la de la misma edad en restringidos desde los 20 días aunque mayormente incrementada en la capa IV. (Fig.24,a).

Los animales liberados a los 80 días, aunque hay recuperación, han roto ya con el patrón incremental original, recuperándose principalmente las capas IV y III. (Figura 24,b).

Corteza Motora.

Las distribuciones obtenidas vienen dadas en la figura 25, a y b

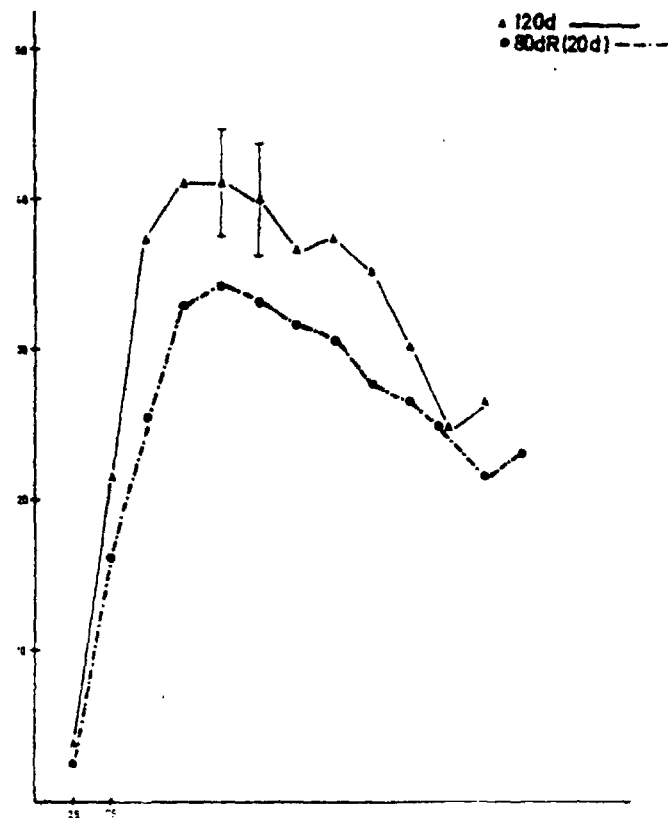
CORTEZA VISUAL - LIBERADOS (40d)



Distancia al soma (μ)

Grafica (a)

CORTEZA VISUAL - LIBERADOS (80d)



Distancia al soma (μ)

Grafica (b)

FIGURA 23 - Evolución con la edad del n° MEDIO de ESPINAS SEGMENTO de talle visual en la CORTEZA VISUAL de animales liberados de restricción de movimiento a los 40 y 80 días.

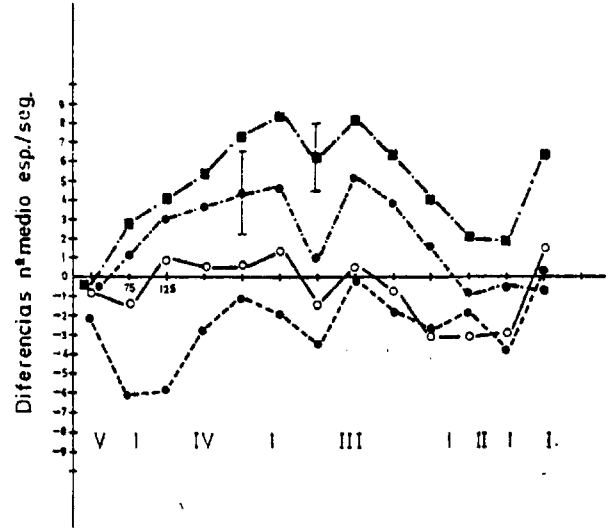
CORTEZA VISUAL

LIBERADOS (40 d)

LIBERADOS (80 d)

- 50 d - 40dR(20) ———
- 60 d - 40dR(20) - - - -
- 80 d - 40dR(20) - - - -
- 80 dR(20) - 40dR(20) - - - -

- ▲ 120 d - 80dR(20) ———
- ▲ 120dR(20) - 80dR(20) - - - -



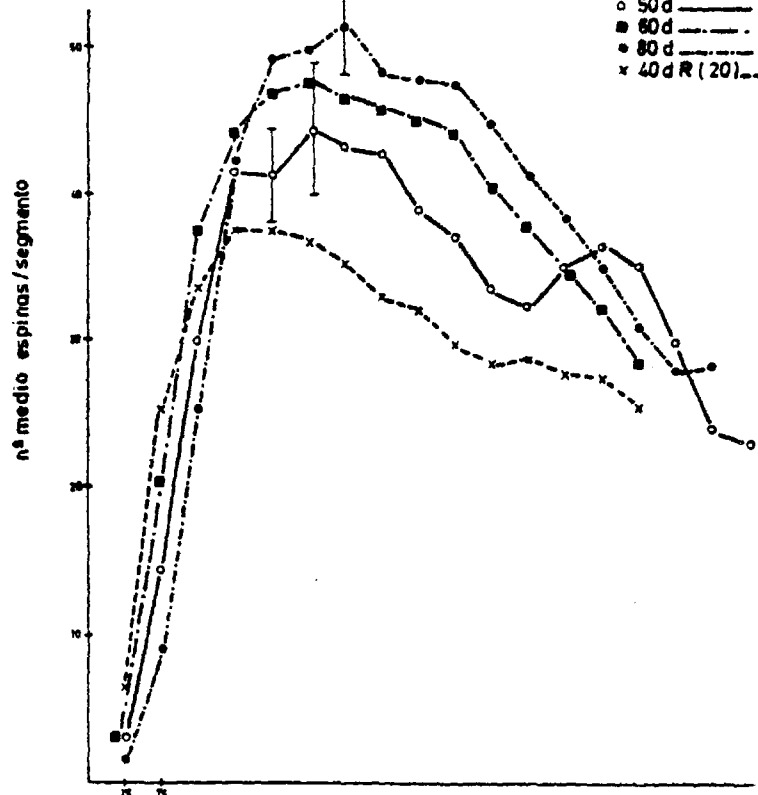
Distancia al soma ()
Grafica (c)

Distancia al soma (μ)
Grafica (d)

FIGURA 24 - Evolución con la edad de las DIFERENCIAS en el N° MEDIO de ESPINAS SEGMENTO de tallo apical respecto 40 y 80 días en la CORTEZA VISUAL, de animales liberados de restricción de movimiento a los 40 y 80 días.

CORTEZA MOTORA - LIBERADOS (40 d)

○ 50d
 ■ 60d
 ● 80d
 x 40d R (20)

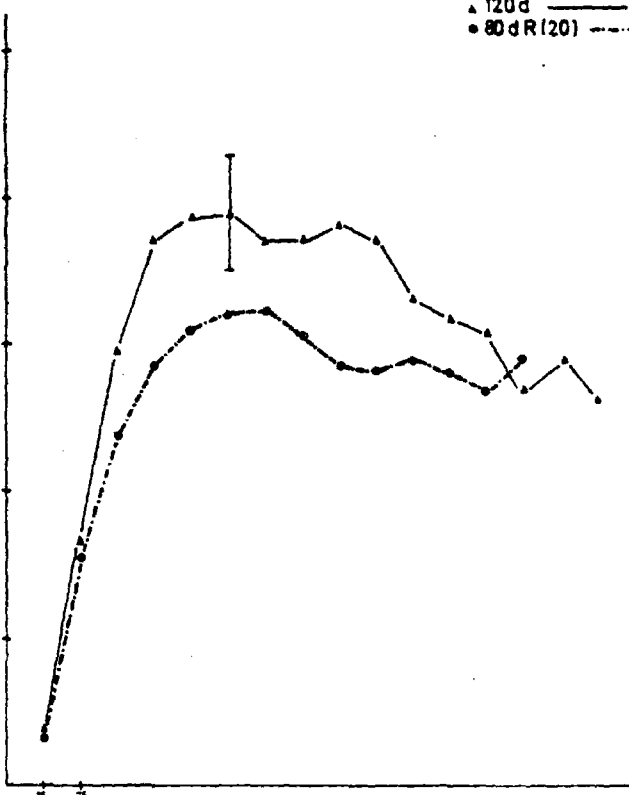


Distancia al soma (μ)

Grafica (a)

CORTEZA MOTORA - LIBERADOS (80d)

▲ 120d
 ● 80d R (20)



Distancia al soma (μ)

Grafica (b)

FIGURA 25 - Evolución con la edad del N° MEDIO DE ESPINAS POR SEGMENTO de cada tipo en la CORTEZA MOTORA, de animales liberados de restricción de movimiento a los 40 y 80 días.

73

En cuanto a la topografía del efecto, en las liberadas a los 40 días (Fig. 26,a) observamos una clara recuperación general que a los 80 días mantiene el patrón original excepto en las capas altas (en este caso la III) en que progresivamente va perdiendo capacidad recuperadora.

Los liberados a los 80 (Figura 26,b) - concentran su crecimiento en la capa V, no siguiendo el patrón incremental establecido que afecta sobre todo a la parte inferior de la V.

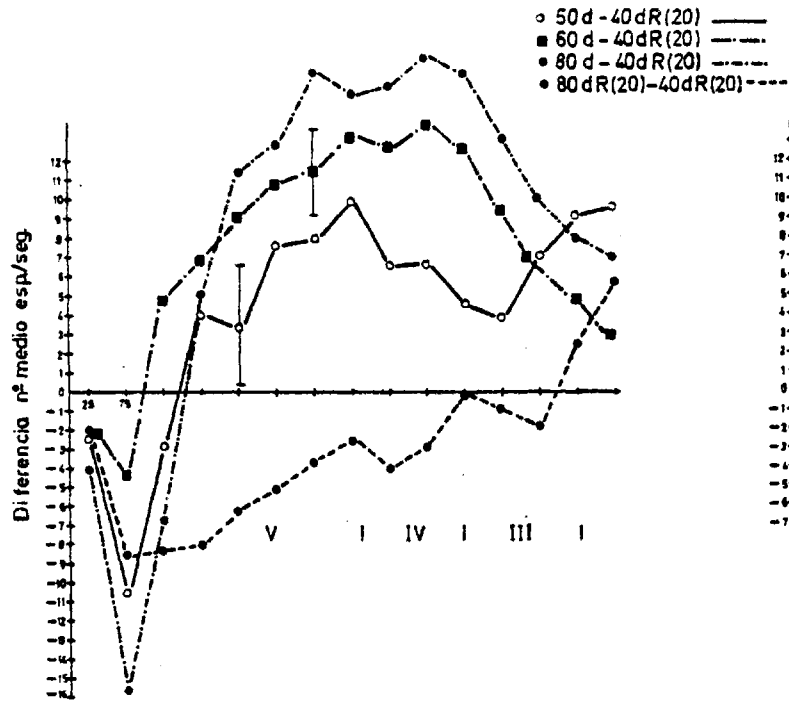
Corteza Somatosensorial.

Las distribuciones obtenidas vienen dadas en la figura 27(a,b). También aquí, en las liberadas a los 40 aparece la recuperación como un fenómeno global y siguiendo el patrón original perfilado. (Fig. 28,a).

En los liberados a los 80 días sólo aparece recuperada la capa V; quizá quepa decir con más propiedad, que la capa V "evita" la depresión consiguiente a los 80 días. (Fig. 28,b).

CORTEZA MOTORA

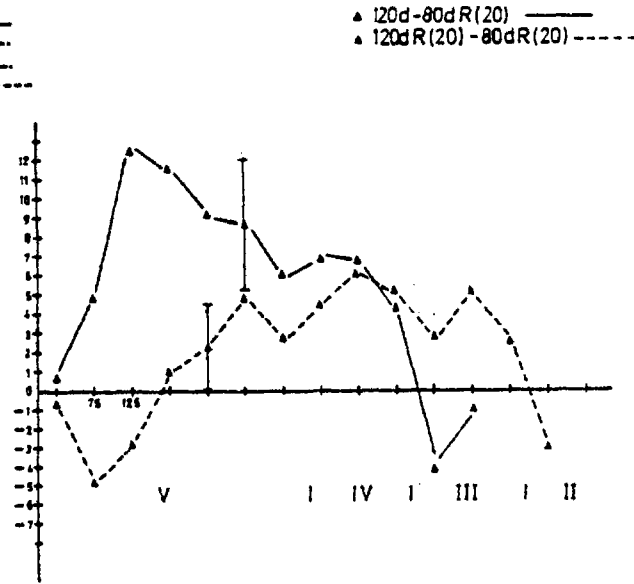
LIBERADOS (40 d)



Distancia al soma (μ)

Grafica (c)

LIBERADOS (80 d)



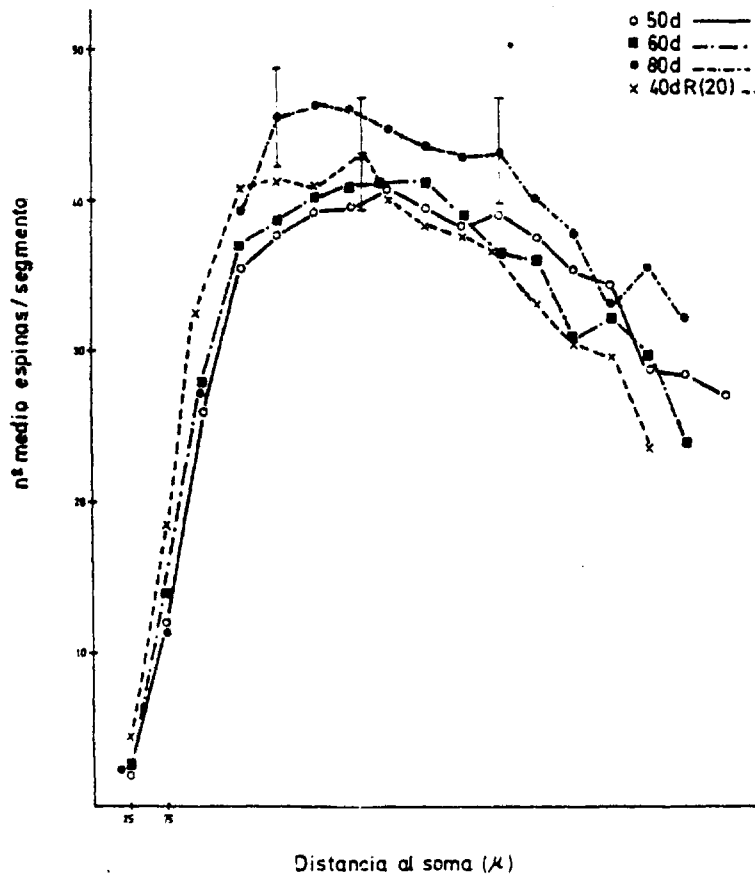
Distancia al soma (μ)

Grafica (d)

FIGURA 26 - Evolución con la edad de las DIFERENCIAS en el N° MEDIO de ESPINAS SEGMENTO de tallo apical respecto 40 y 80 μ fas en la CORTEZA MOTORA, de animales liberados de restricción de movimiento a los 40 y 80 días.

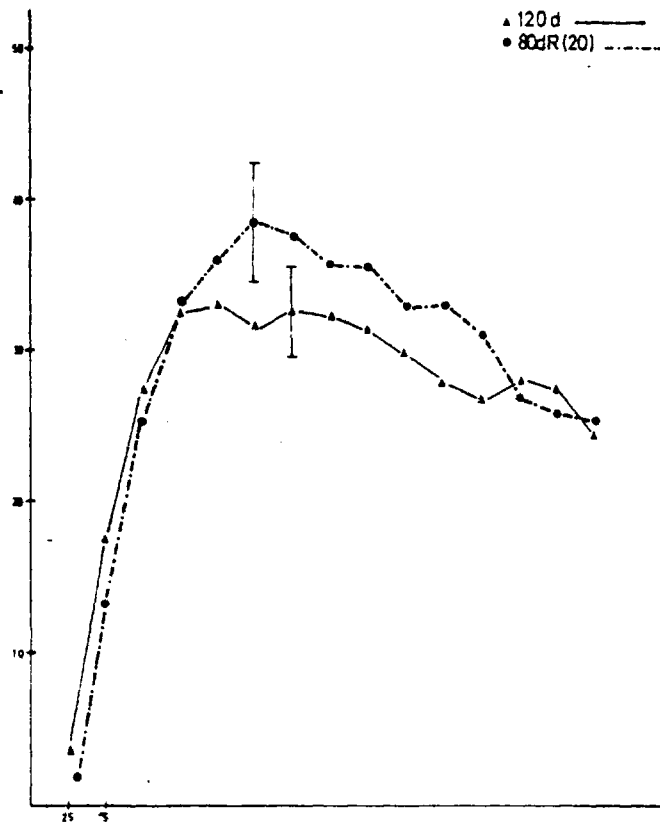
CORTEZA SOMATOSENSORIAL-LIBERADOS (40d)

CORTEZA SOMATOSENSORIAL LIBERADOS (80d)



Distancia al soma (μ)

Grafica (a)



Distancia al soma (μ)

Grafica (b)

FIGURA 27 - Evolución con la edad del N. MEDIO de ESPINAS POR SEGMENTO de DENDRITOS que se encuentran en la CORTEZA SOMATOSENSORIAL de animales liberados de restricción de movimiento a los 40 y 80 días.

97

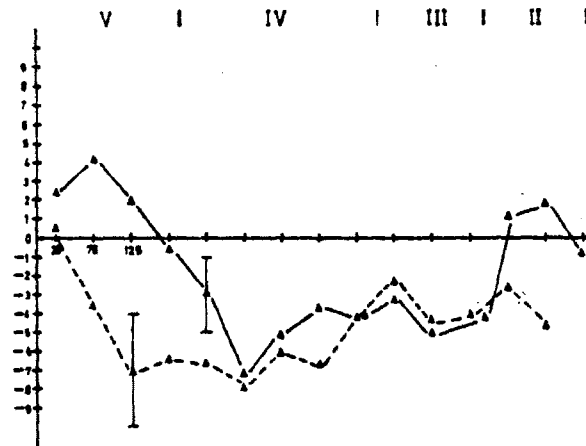
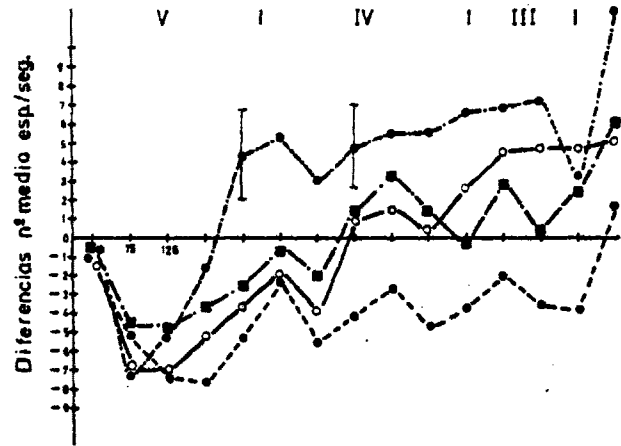
CORTEZA SOMATOSENSORIAL

LIBERADOS (40d)

LIBERADOS (80d)

- 50d-40dR(20) ———
- 60d-40dR(20) - - - -
- 80d-40dR(20) - - - -
- 80dR(20)-40dR(20) - - - -

- ▲ 120d-80dR(20) ———
- 120dR(20)-80dR(20) - - - -



Distancia al soma (μ)

Distancia al soma (μ)

Grafica (c)

Grafica (d)

FIGURA 28 - Evolución con la edad de las DIFERENCIAS en el N° MEDIO de ESPINAS SEGMENTO de tallo apical respecto 40 y 80 días en la CORTEZA SOMATOSENSORIAL, de animales liberados de restricción de movimiento a los 40 y 80 días.

47

III.3 - Conclusiones parciales que se obtienen de estos resultados.

Respecto la restricción no hay "período crítico" puesto que a todas las edades estudiadas, al pasar de la situación de restricción a la de movilidad, se observa una clara recuperación.

Hay pérdida de plasticidad cortical con la edad, entendiéndose por plasticidad en este caso, la capacidad de recuperación dado que en iguales períodos de tiempo en un caso de observación se recupera totalmente, pero a la edad de 80 días y estudiadas a los 120, no se ha recuperado totalmente.

Es de notar el hecho de que en las tres cortezas se observa que la recuperación lleva hasta niveles normales de espinas sin superarlos significativamente, incluso en el CV desciende como en controles, hecho indicativo de que inmediatamente después de cesar la restricción hay una potenciación en el proceso generador de espinas que cesa al alcanzarse niveles normales.

Tanto en el CV, CM o CS hay un claro

efecto recuperador. La comparación de las distintas gráficas de diferencias con la que hubiera sido si no se hubiera producido la liberación, muestra que el efecto es global; ha afectado a todo lo largo de la corteza por igual.

Cuando la liberación se produce a los 80 días, hay una clara recuperación en CV que no se observa tan nitidamente en las otras dos, siendo esto una consecuencia de que mientras en CV entre 80 y 120 no se observa efecto degenerativo debido a la edad, en CM o CS este efecto había comenzado ya, lo cual tiene como consecuencia el que no hay recuperación al sobreponerse la depresión (tan solo en capa V).

9

DISCUSSION

DISCUSION.

1 - La restricción de movimiento a edad temprana.

Una conclusión importante de este trabajo de Tesis, es que la estimulación dependiente de movimiento, condiciona fuertemente el aumento inicial del número de espinas en los tallos apicales de la células piramidales, en el sentido en que altera el patrón topográfico que sigue dicho crecimiento.

Aunque la restricción de movimiento afecta la generación de espinas en las tres áreas corticales observadas, en las CV y CS el número de espinas continúa creciendo, aunque menos que en los controles hasta los 40 días de edad, en que comienza a decrecer. En la corteza motora sin embargo, este descenso se observa ya a partir de los 30 días (10 días antes que en las CV y CS) siendo la diferencia entre el número medio de espinas correspondiente a animales restringidos estadísticamente significativa respecto a la que tendría en controles ($P < 0,01$).

Estos resultados de afectación de la Corteza Visual confirman las conclusiones de nuestro trabajo anterior (Ruiz Marcos y Sala, 1979); la CV se presenta como un área cortical en la que la estimulación producida por el movimiento es esencial para su desarrollo.

Ya trabajos anteriores como los pioneros de Held y col.(1967) o, Hein y col.(1972), Riesen y Aarons(1959) realizados en mono y hombre, habían demostrado la importancia de los movimientos corporales para el desarrollo de la capacidad visual y la coordinación sensorio-motora. Más tarde, Diamond. y Greenough revelaron la importancia de una riqueza estimulativa general para el desarrollo de su microestructura.

Pero son los trabajos del grupo Rossenzweig los - que más notablemente han incidido en demostrar los efectos de la multisensorialidad sobre el cerebro. Ellos descubren que un ambiente rico en estímulos diversos, incrementaba - el peso del cerebro. Pero para nuestro propósito nos interesa destacar los trabajos más recientes centrados en discriminar más concretamente el modo en que la multisensoria - lidad ambiental produce el cambio cerebral. En el año 1975 Rossenzweig y col. mostraron la necesidad del contacto di - recto con el ambiente experimental enriquecido, como condi - ción necesaria para el incremento del peso cerebral. Más - recientemente, en el 78, los mismos autores demostraron - que el agrupamiento social era inadecuado para explicar - los efectos cerebrales del ambiente enriquecido, llegando a postular que solo las condiciones de estimulación por ob - jetos inanimados eran las causantes del aumento de peso.

Pensamos que nuestros resultados demuestran más -

concretamente la importancia del movimiento y por lo tanto de su mayor o menor posibilidad en el desarrollo de la corteza cerebral. Sin embargo ya Rossenzweig y col. sugirió - que el efecto del enriquecimiento de estímulos no afecta a los procesos de maduración cerebral, sino que más bien afectaría a estructuras que mantienen a lo largo de la edad una plasticidad de respuesta a los cambios ambientales. En este sentido podríamos preguntarnos ¿Hasta qué punto incide la restricción de movimiento sobre la maduración cortical o sobre procesos ya establecidos?.

Para intentar responder desde nuestro punto de vista a esta pregunta hay, aparte de nuestros resultados que comentaremos, una evidencia importante que es la de Shapiro y Vuowich (1970). En sus experimentos demuestran que la experiencia estimulativa general influye en ratas recién nacidas en los ocho primeros días de edad, alterando tanto las espinas por micra de dentrita basal, como la ramificación de las mismas dendritas, sobre todo los niveles más altos de ramificación o ramificaciones terminales.

Por otra parte, hay ya abundante evidencia de que los procesos de maduración cortical en la rata, acaban a partir de los 20 días, momento de comienzo de nuestra situación experimental; Dobbing y col. (1974) detectan en los primeros veinte días, la máxima "oleada" de desarrollo medido como relación porcentual del peso cerebral al peso corporal

del animal. En términos de conectividad (tasa de densidad axónica) el máximo incremento ha sido situado entre los 12 y 20 días por Eayrs y Goodheed (1959); también en este tiempo se registra la mayor tasa de aumento del número de sinapsis (Aghajanian y Bloon, 1967). También Balaz y col. han demostrado en rata que el metabolismo de glucosa madura ya entre 20 ó 30 días.

Todos estos resultados apuntan a que los procesos claves de maduración cortical estarían ya muy acabados para los 20 días en que iniciamos nuestro experimento.

Ahora bien, Parnavelas y Uylings en 1980, aportan una evidencia importante. Estudiando el desarrollo de la estructura neuronal a nivel de capa IV en la corteza visual de la rata, descubrieron que acaba la primera semana postnatal; presentaban estas células un pericarión indiferenciado y poca arborización dendrítica. Por estudios cuantitativos determinaron que la estructura básica del campo dendrítico estaba acabada a la mitad de la tercera semana, tanto en células piramidales como en no piramidales; incluso en trabajos anteriores establecían que alrededor de los 22 días de edad culminaba la etapa final de maduración en lo que se refiere a grosor dendrítico y contenido citoplásmico. Tan solo los terminales dendríticos continúan su elongación hasta los 90 días. Esto apunta a la existencia de aspectos estructurales que ya fuera del período madura-

tivo prolongan su desarrollo. Desde nuestro punto de vista, las espinas dendríticas de los tallos apicales se encuentran entre este tipo de estructuras; el que alcancen un determinado nivel, dependería de que a los procesos madurativos intrínsecos se les agreguen las influencias externas de la riqueza estimular producida por el movimiento. Cuando esto no se produce, el nivel alcanzado durante los períodos iniciales del desarrollo es menor, puesto que pasa a depender en gran medida de procesos intrínsecos de maduración cortical.

Había pues, dos períodos fácilmente caracterizables desde nuestros experimentos. En el primero, aunque la situación de estímulos de movilidad influye, predominan los procesos intrínsecos de maduración (poco en la corteza visual) que eleven el número de espinas. Mientras que a partir de 40 días (quizá 30-35 en visual), el incremento numérico de espinas sería controlado por la estimulación suscitada por el movimiento y que en el caso de no producirse, tenderían a degenerar las espinas sintetizadas.

También nuestros resultados confirman la conclusión ampliamente demostrada de Berry y Rogers, 1965; Berry y col., 1964 a y b, Schadé y col., 1962; Morest, 1969; Sanchez-Toscano (Tesis Doct.) de que en el CV hay un gradiente en el desarrollo cortical de forma que la maduración va de dentro a afuera en el tiempo, la capa III se desarrolla más tardíamente -

que la IV. Las capas II y III son las últimas en alcanzar valores adultos. (Wolff, 1976).

En las cortezas motora y somatosensorial de la rata, describimos por primera vez el patrón de crecimiento por capas, habiendo probado que, tanto en el área motora como visual, existe un gradiente topográfico de las partes más profundas a las más superiores, el cual no se cumple tan fielmente en la somatosensorial, donde si el inicio corre a cuenta de la V, el mayor incremento posterior, -- aunque realizándose de forma global --, implica fuertemente a la III.

También hay que discutir el espectacular comportamiento que a partir de los 80 días exhibe la corteza somatosensorial de la rata. Se trata de un proceso degenerativo global y por tanto a lo largo de todo el tallo, que implica a las espinas dendríticas y que lleva su número a niveles iniciales de desarrollo. Lo sorprendente fue encontrar el mismo proceso en animales restringidos a los 20 días que alcanzan un nivel mucho más inferior al control de 20. Esta coincidencia nos conduce directamente a una explicación de tipo intrínseco, quizá una pérdida ya programada de funcionalidad de las espinas en esa corteza, la cual a su vez, puede estar relacionada con la recuperación parcial observada a esta edad en el área motora.

2 - Plasticidad cortical en edades adultas.

El segundo grupo de nuestros resultados que se refieren a la influencia de la restricción de movimiento sobre la corteza adulta, vienen a indicar que la estimulación procedente del movimiento es esencial, una vez completado el proceso de síntesis de espinas, en el mantenimiento de las mismas. La ausencia pues de un nivel adecuado de movilidad provoca la regresión numérica de las espinas generadas hasta niveles basales correspondientes a la restricción temprana.

No sólo hay "períodos límites" de desarrollo cortical pasados los cuales la corteza no respondería a la restricción, sino que incluso en períodos tardíos (80 d), - la posibilidad de movimiento aparece como esencial en el mantenimiento de las espinas de la dendrita apical.

Esto queda evidenciado en la corteza visual que ya a los 40 días ha alcanzado el máximo nivel de espinas. Los experimentos de restricción aplicados deprimen el número de estas estructuras a niveles basales.

En la corteza motora, el experimento de restricción desde 40 días impide la culminación normal de la generación de espinas, paralizando su número. A los 80 días, cuando el período generativo ha pasado, el efecto depresi

vo es profundo.

En la corteza somatosensorial es probable que el incremento de espinas dure hasta 60 días, entrando desde entonces en un período de estabilización en la capa V, en el que la sensibilidad a la restricción sería máxima. A los 80 días, el efecto depresivo del experimento no se manifiesta con la intensidad esperada, porque se superpone el proceso intrínseco de degeneración discutido en el apartado anterior.

En cuanto a la recuperación de espinas al restaurar la situación normal de movimiento a edades adultas, nuestros resultados son positivos.

En este sentido nuestra conclusión es que la corteza -- a las edades estudiadas -- mantiene un potencial de recuperación de espinas y por tanto su plasticidad a los cambios de situación estimular. No encontramos un "período crítico" desde nuestra experimentación pasado el cual la recuperación de espinas en movimiento no sea significativa respecto al grupo de restringidos tempranos.

Cabe, pues, tener en cuenta varios trabajos que, utilizando situaciones experimentales distintas, apoyarían esta conclusión.

En primer lugar los más tempranos de Rutledge y col., (1974) y Valverde (1971). Rutledge estudió el efecto que el aumento de estimulación eléctrica de zonas concretas de la corteza cerebral (del gato) tenía sobre la microestructura de las zonas contralaterales estimuladas. En esta zona describieron un incremento en la arborización dendrítica apical de neuronas de las capas II y III y así como mayor número de espinas respecto a los controles en las porciones terminales, verticales y oblicua de la dendrita apical. Desde estos resultados apoyaron el hecho de que los axones terminales pueden crearse también en adulto como consecuencia de un incremento de uso y que las estructuras postsinápticas (espinas, dendritas) pueden reflejar el incremento de la función sináptica por desarrollo de nuevas espinas o contactos sinápticos.

Recientes experimentos de Uylings y col, (1978), vienen a apoyar esta tesis. Estos autores encuentran un efectivo crecimiento dendrítico en rata adulta, inducido por un ambiente de riqueza estimular semejante al utilizado por Rossenzweig. Estudian la corteza visual a partir de los 112 días hasta los 142, por lo tanto, tras una "experiencia enriquecida" de 30 días. Además de un incremento en grosor del corte occipital y frontal, encuentran que el incremento de la ramificación dendrítica ocurre a nivel de segmentos terminales, conformando la

ya comentada plasticidad de estas estructuras. Vienen a concluir que el efecto de la experiencia diferencial sobre la microestructura cortical no se halla limitada por un "período crítico".

También los trabajos de Wil y col., (1976) encuentran de la experiencia, enriquecida ayuda a la recuperación de los efectos degenerativos y comportamentales de ratas con distintas lesiones corticales inducidas experimentalmente.

Pero fue Valverde en su trabajo pionero (1971), el que planteó las cuestiones más relevantes de las experiencias de recuperación cerebral. Aunque utilizando un modelo estimular distinto -- luz-oscuridad -- encontró en rata adulta una parcial recuperación del número de espinas de ratas criadas en oscuridad, al exponerlas nuevamente a la luz. En este trabajo preguntaba, ¿Las alteraciones por deprivación sensorial son o no reversibles?. ¿Es importante la edad en los análisis de los cambios producidos por deprivación sensorial?.

Si el modo de cuantificación elegida en esta Tesis no permite la confirmación de su hipótesis según la cual había dos poblaciones de células piramidales con distinto potencial recuperador, sí que nos permite responder a las preguntas anteriores.

Nuestros resultados apoyan la idea de una reversibilidad de efecto deprivación aplicado en nuestro caso aunque el grado de la misma parece variar con la edad.

La liberación de la situación experimental a los 40 días conduce a la recuperación total de la corteza cerebral correspondiente a 40 días después. Esta recuperación es más o menos rápida, dependiendo de la distinta incidencia que la situación estimular tiene para cada corteza. Para el cortex motor, la recuperación es inmediata (10 d.); para el cortex visual y somatosensorial más tardía, aunque en todos los casos a los 80 días de edad, se han alcanzado los niveles controles.

Sin embargo, en animales liberados a los 80 días, aunque hay recuperación, ésta no llega nunca a ser total, sino parcial, afectando además, principalmente a zonas del tallo cercanas al soma. Pensamos que aunque no hay un período crítico, porque siempre registramos recuperación, la edad es un factor importante a tener en cuenta sobre todo -- pasados los 80 días. El potencial recuperador de las neuronas piramidales -- por lo que al número de espinas se refiere --, va disminuyendo con la edad.

3 - Modelos de depresión y recuperación corticales.

Nuestros resultados de depresión y recuperación cortical apuntan a que en estos fenómenos, por lo que se refiere a la movilidad, la neurona piramidal profunda de la corteza cerebral se afecta globalmente y no sólo en una parte localizada del tallo apical.

En este sentido también podemos dar una respuesta a la pregunta de Valverde: ¿las alteraciones en el número de espinas afectan al tallo apical como un todo?.

Efectivamente, así es desde nuestra situación de privación en que el aumento o la privación plástica del número de espinas a lo largo del tallo se efectúa homogéneamente sobre una distribución ya prefijada.

La única excepción en este punto entre nuestros resultados, la obtenemos en los experimentos de recuperación tardía (80 d.) en los que los efectos de la situación de libertad aparecen concentrados en las capas inferiores V y IV y apenas en las superiores. Ya hemos apuntado sobre esto la posibilidad de una pérdida del potencial recuperador con la edad.

Estas conclusiones nos permiten abordar la problemática a la determinación de la geometría sináptica

del tallo apical de las pirámides corticales, pudiendo contrastar dos teorías actuales sobre ello: la de Changeux y col., y la de Hubel y Wiesel.

La teoría de Changeux (Changeux y col., 1973), deducida principalmente de sus estudios en células de Purkinje del cerebelo, predice que el patrón de distribución de espinas a lo largo de las dendritas se va formando progresivamente en tanto en cuanto la funcionalidad de las aferencias corticales "selecciona" una muestra "redundante" de espinas en la dendrita.

Pensamos que nuestros resultados no confirman esta teoría puesto que según ella cabría esperar una disminución del efecto depresor de la restricción con la edad y ello no se observa. Por el contrario, la restricción madura (80 d.) actúa tan drásticamente como la restricción temprana (20 d.). No parece haber pues, una "estabilización selectiva" de espinas, por lo menos en nuestros experimentos.

Más bien nuestros resultados apoyan la hipótesis de Hubel y Wiesel, (1974), llamada de "verificación funcional" según la cual la actividad neuronal contribuye a la estabilización global de una red de contactos ya previamente madurada. El hecho de que en nuestros experimentos se afecte el mismo número de espinas respe-

tando un patrón original a lo largo de todo el tallo apoya la idea de que el movimiento estabiliza globalmente la red o la deprime en la misma forma, controlando el umbral final numérico de contactos sinápticos en la espina.

¿Qué vías anatómicas intervendrían en estos procesos?.

Recientemente han comenzado los estudios anatómicos dirigidos a elucidar las complejas relaciones funcionales tálamo corticales y córtico-corticales en la rata albina.

La situación de restricción de movimiento supone una pobreza en estimulación exteroceptiva y un tanto de la riqueza estimular que circula por el lemnisco hasta el complejo nuclear talámico ventrobasal o ventro lateral posterior. Precisamente este núcleo envía aferencias directas al cortex somatosensorial y a las áreas paraestriadas de la corteza (área 18) (Donoghe, 79). También la información cerebello-talámica se empobrece mucho y por lo tanto, también la corteza motora recibiría menos estimulación desde el núcleo ventro-lateral (Donoghe, 79).

Todo este sistema de aferencias directas por lo menos en el cortex motor y somatosensorial, se halla principalmente dirigido a las capas centrales del cortex (V, IV, III).

Ahora bien, los trabajos de Akers y col., (1978) y Wise y Jones (1978) realizados el mismo año, pusieron de manifiesto la existencia de un sistema de aferencias callosas (Akers) o comisurales (Wise y Jones) que cubren todas las capas de la corteza somatosensorial. Es probable que la función estabilizadora general que ejerce el movimiento sobre la corteza, esté fundamentalmente mediado por ese segundo sistema de aferencias. Esto desde luego, requeriría ulterior confirmación experimental.

4 - La función de las espinas dendríticas del tallo apical de las piramidales.

Parece lógica la formodinámica de la espina propuesta por Changeux y col, (1978), según la cuál toda espina dendrítica aparecería primero en situación "labil" funcionalmente activa y que dependiendo de las exigencias funcionales de la red aferente evolucionaría a situación S, "estable" o a situación D "degenerada".

La riqueza estimulativa que proporciona el movimiento será fundamental en la etapa de transición LS.

Recientemente Coss y Globus, (1980) han demostrado en neuronas de ganglios nerviosos de invertebrados que las espinas dendríticas cambian morfológicamente asociadas a las distintas situaciones estimulares por las que atraviesa el desarrollo de la abeja (pupa-larva-adulto). Hay un progresivo acortamiento de la espina que reflejaría -- según los autores -- un flujo diferencial de impulsos - aferentes al cuerpo dendrítico. El acortamiento reduciría la longitud electrotónica aumentando su eficacia sináptica al disminuir la resistencia eléctrica ofrecida por la membrana.

Son muy diversas las teorías existentes acerca de la funcionalidad de la espina dendrítica apical. Ramón y

Cajal arguyó que suponían un aumento de superficie sináptica. Chang en 1972 supuso que modulaban o atenuaban el potencial sináptico; en esta línea estaría expuesta la idea expuesta de Coss y Globus. Peters y Kaiserman-Abramof (1970) pensaron que eran estructuras activas destinadas a alcanzar los axones circundantes. Todas ellas dejan entrever las distintas técnicas y perspectivas que manejan los distintos autores que las enuncian. Nosotros, para acabar podríamos añadir un nuevo aspecto a modo de hipótesis, que coincide mucho con la de Diamond y col., (1970).

La espina dendrítica apical representaría un papel esencial en la integración cortical de estímulos no específicos y específicos, puesto que la dicha estructura presenta una especial plasticidad a la riqueza estimulativa general.

La importancia en la integración de la estimulación específica a nivel de corteza ya está ampliamente demostrada, sin embargo, la plasticidad ofrecida por las espinas de cada área primaria a la estimulación no específica de dicha área, apunta un papel especial en la integración y procesamiento celular de dicha información no específica, sobre todo en edad adulta.

7

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

- 1 - Las tres áreas corticales estudiadas (CV, CM y CS) responden plásticamente a las situaciones experimentales de restricción y liberación de movimiento. Así pues, el movimiento y su estimulación correspondiente juega un papel importante en el desenvolvimiento normal del desarrollo de las áreas primarias del neocortex.
- 2 - Hasta los 80 días de edad, podemos afirmar la ausencia de "períodos límites" para la depresión cortical. Las tres áreas se afectan intensamente a todas las edades por la inmovilidad.
- 3 - No existe un "período crítico", por lo menos hasta los 80 días, a partir del cual la corteza no se recupere. Por el contrario, siempre registramos -- al restaurar la estimulación normal --, fenómenos de recuperación sináptica.
- 4 - No obstante la edad parece ser un factor importante en el grado de recuperación. A partir de 80 días la recuperación de las tres áreas es sólo parcial. Se ha perdido capacidad recuperadora.
- 5 - Las neuomas piramidales de las tres áreas corticales se -
deprimen y recuperan globalmente, a lo largo de todo el tallo apical, excepto la recuperación parcial habida en los

- 100 -

animales liberados a partir de 80 días que incrementa el número de espinas solo a niveles cercanos al soma neuronal (Capas V y IV).

101

AGRADECIMIENTO

AGRADECIMIENTOS:

Quiero expresar mi agradecimiento:

- Al Dr. ANTONIO RUIZ MARCOS por su ayuda y colaboración en la dirección del presente trabajo.
- Al Dr. Don ALFREDO CARRATO IBAÑEZ, director del Instituto Cajal del C.S.I.C. por haber tenido la amabilidad de aceptar - la ponencia de esta Tesis.
- A las Dras ALVAREZ y SANTACANA 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 LARGACHA por las fotografías, a ESTHER FERNANDEZ DE MOLINA por su ayuda en la mecanografía, a MARIA CONCEPCION GABRIEL por el trabajo del computador y a CIPRIANO GARCIA por su valiosa ayuda en lo relativo al manejo de los animales y labores de taller. También a su hijo JUAN por su colaboración en las gráficas.
- A DON PEDRO RIOFRIO VIÑALS por la rápida mecanografía de esta Tesis
- A mis queridos compañeros FERNANDO SANCHEZ-TOSCANO y PEDRO CARTAGENA por su constante apoyo y estímulo.
- Por último, a mis queridos amigos LAURA, TONY, JUANA, JAIME y SANTY.
- Este trabajo ha sido posible gracias a una beca predoctoral del C.S.I.C.

102

BIBLIOGRAFIA

AGHAJANIAN, G.K. Y BLOON, F.E.(1967). The formation of synaptic junctions in developing rat brain" A quantitative microscopic study. Brain Res.6:716-727.

AKERS, R.M. Y KILLACKEY, M.D.(1978). Organization of corticocortical connections in the parietal cortex of the rat. J.Comp. - Neurol. 181, 3, 513-538.

BALAZ, R., PATEL, A.J. Y LEWIS, P.D.(1977).- Metabolic influences on cell proliferation in the Brain.

En A.N. Davison "Biochemical Corielates of Brain Structure and Function". Academic Press, New York, pag 43-83.

BENNETT, E.L., DIAMOND, M.C, KRECH, D. Y ROSENZWEIG, H.R.(1964) .

Chemical and anatomical plasticity of Brain.- Science 146:610-619.

BERRY M., ROGERS, A.W. Y EAYRS, J.T.(1964a).- Pattern of cell - migration during cortical histogénesis.-Nature 203: 591-593.

BERRY, M., ROGERS, A.W. Y EAYRS, J.T(1964b).- The pattern and mechanism of migration of the neuroblast of the developing Cerebral Cortex.-J.Anat.(Lond) 98: 291-292.

BERRY, M. Y ROGERS, A.W.(1965).- The migration of neuroblast. in the developing Cerebral Cortex.-J.Anat(Lond) 99:691-709.

BORGES, S. Y BERRY, M. (1.976).- Preferential orientation of stellate cell dendrites in the visual cortex of the dark-reared rat. Brain Res. 112: 141-147.

BORGES, S. Y BERRY, M. (1.978).- The effects of dark rearing on the development of the visual cortex of the rat. J. Comp. Neurol. 180: 277-300.

CHANG, H.T. (1.952).- Cortical neurons with particular reference to the apical dendrites. Col. Spring. Harbour Symp. Quant. Biol. 17: 189-202.

CHANGEUX, J. P., COURREGÉ, PH., DANCHIN, A. (1.973).- A theory of the epigenesis of neuronal networks by selective stabilization of synapses. Proc. Nat. Acad. Sci. 70: 2.974-2.978.

CHANGEUX, J.P., Y MIKASHIBA, K. (1.978).- Genetic and 'epigenetic' factors regulating synapse formation in vertebrate cerebellum and neuromuscular junction. En "progress in Brain Research" - Vol. 48. Maturation of the Nervous System. Elsevier. Amsterdam.

COLONIER, M. (1.968).- Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat Visual Cortex. An electron microscope study. Brain. Res. 9:268-287.

COSS, R.G., BRANDON, J.G. Y GLOBUS, A., (1.980).- Changes in morphology of dendritic spines on honeybee calycal interneurons associated with cumulative nursing and foraging experiences. Brain

Res. 192, 1, 49-59.

CRAGG, B.G. (1.967).- Changes in visual cortex on first exposure of rats to light. Nature. 215: 251-253.

CRAGG, B.G., (1.975).- The development of synapses in kitten visual cortex during deprivation. Exp. Neurol. 46: 445-451.

DIAMOND, J. (1.970).- The function of the dendritic spine: an hypothesis. En Excitatory Synaptic Mechanism. Ed. por P. Andersen y J. R. S. Yansen. Universities forlaget. Oslo. Págs. 213-222.

DOBBING, J., (1.974).- The later growth of the brain and its vulnerability. Pediatrics 53: 2-6.

DONOGHUE, J. P., KERMAN, K.L. Y EBNER, F.F., (1.979).- Evidence for two organizational plans within the somatosensory-motor cortex of the rat. J. Comp. Neurol. 183, 3, 647-664.

EAYRS, J.T., Y GOODHEAD, B., (1.959).- Postnatal development of the cerebral cortex in the rat. J. Anat (Lond.) 93: 385-402.

FERCHNIN, P.A., BENNET, E.L. Y ROSSENZWEIG, M.R., (1.975).- Direct contact with enriched environments is required to alter cerebral weights in rats. J. Comp. physiol. Psychol. 88, 1, pág. 360-367.

GLOBUS, A. Y SCHEIBEL, A.B., (1.966).- Loss of dendrite spines -
as an index of pre-synaptic terminal patterns. Nature, 212: 463-
465.

GLOBUS, A. Y SCHEIBEL, A.B., (1.967 a).- The effect of visual de
privation on cortical neurons: A Colgi study. Exp. Neurol. 19: 331
-345.

GLOBUS, A. Y SCHEIBEL, A.B., (1.967 b).- Synaptic loci on visual -
cortical neurons: The specific afferent-radiation. Exp. Neurol. -
18: 116-131.

GLOBUS, A., ROSENZWEIG, M.R., BENNET, E.L. Y DIAMOND, M.C., (1.973)
Effects of differential experience on dendritic spine counts in -
rat cerebral cortex. J. comp. Physiol. Psychol. 82: 175-181.

GRAY, E.G. (1.959).- Axo-somatic and axo-dendritic synapses of -
the cerebral cortex: an electron microscope study. J. Anat. 93: -
420-433.

GREENOUGH, W.T., Y WOLKMAR, F. (1.973).- Pattern of dendritic bran
ching in occipital cortex of rats reared in complex environments.
Exp. Neurol. 40: 491-504.

GREENOUGH, W.T., WOLKMAR, F.K. Y JURASKA, J.M., (1.973).- Effects
of rearing complexity on dendritic branching in frontolateral and
temporal cortex of the rat. Exp. Neurol. 41: 371-378.

GYLLENSTEN, L., MALMEFORS, T. Y NORRLIN-CRETTUE, M.L., (1.965).- -
Effects of visual deprivation in the optic centers of growing and
adult mice. J. Comp. Neurol. 124: 149-160.

HEBB, D.O., (1.949).- Organization of Behavior. Jhon Wiley y Sons.
Nueva York.

HEIN, A. Y HED, R., (1.967).- Dissociation of the visual placing
response into elicited and gended components. Sci. 158: 390-392.

HEIN, A. Y DIAMOND, R.M., (1.972).- Locomotory space as a prere-
quisite for acquiring visually guided reaching in Kittens. J. Comp.
Physiol. Psychol. 81: 394-398.

HUBEL, D.H. Y WIESEL, T.N., (1.963).- Receptive fields of cells
in striate cortex of very young, visually inexperienced kittens. -
J. Neurophysiol. 27: 994-1002.

ISAACSON, R.L., (1.975).- The myth of recovery from early brain
damage. In N. R. Ellis (ed.) Aberrant Development in Infancy. Law-
rence Erlbaum Associates, Potomac.

KELCHE, C.R. Y WILL, B.E., (1.978).- Effects de l'environnement sur
la restauration fonctionelle apes lesions hippocampignes chez des
rats adultes. Physiol. Behav. 21: 935-941.

KRIEG, W.J.S., (1.946).- Connections of the cerebral cortex. I.

The albino rat. A topography of the Cortical Areas. J. Comp. Neurol
84: 221-275.

LEUBA, G. Y RABINOWICZ, TH.- Long-term effects of postnatal under
nutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. Exp. -
Brain Res. 37: 283-308.

MOREST, D.K., (1.969).- The differentiation of cerebral dendrites
a study of the postmigratory neuroblast in the medial trapezoid bo
dy. Z. Anat. Entwicklungsgesch. 128: 271-289.

MOREST, D.K. Y MOREST, R.R., (1.966).- Perfusion-fixation of the -
Brain with chrome-asnium solutions for the rapid. Colgi method. -
Amer. J. Anat. 118: 811-832.

PARNAVELAS, J.G., LIEBERMAN, A.R. Y WEBSTER, K.E., (1.977).- Organi
zation of neurons in the Visual cortex, Area 17, of the rat. J. -
Anat. 124: 305-322.

PARNAVELAS, J.G. Y UYLINGS, H.B.M., (1.980).- The growth of non-py
ramidal neurons in the visual cortex of the rat: A morfometric stu
dy. Brain Res. 193, 2, 373-382.

PETERS, A. Y KAISERMAN-ABRAMOF, I.R., (1.970).- The small Pyrami -
dal neuron of the rat cerebral cortex. The perikarion, dendrites -
and spines. Amer. J. Anat. 127: 321-356.

PURPURA, D.P., (1.975).- Dendritic differentiation in Human cerebral cortex: Normal and aberrant developmental patterns. En. Adv. in Neurol. Vol. 12. Ed. por G. W. Krentzberg. Raven Press. New York. Págs. 91-116.

RALL, W., (1.962).- Electrophysiology of a dendritic neuron model. Biophys. J. 2: 146-167.

RALL, W., (1.970).- Dendritic neuron theory and dendro-dendritic synapses in a simple cortical system. The Neurosciences. Second Study Program. Ed. por F. O. Schmitt. The Rockefeller University Press. New York. Págs. 552-565.

RAMON Y CAJAL, S., (1.891).- Sur la structure de lécorcé cerebrale de quelques mammiferes. Cellule 7: 125-176.

RAMON Y CAJAL, S., (1.911).- Histologie du Systeme Nerveux de l'homme et des vertebres. 2 Vol. Trad. por L. Azoulay. Reimp. por el Instituto Ramón y Cajal del C.S.I.C. Madrid 1.952-1.972.

RIESEN, A.H. Y AARONS, L., (1.959).- Visual movement and intensity discrimination in cats after early deprivation of pattern vision. J. Comp. Physiol. Psychol. 52: 142-149.

ROSE, M., (1.929).- Cytoarchitektonischer atlas der crobhirnrinde der Maus. J. Psychol. Neurol. (Lps.) 40: 1-51.

ROSENZWEIG, M.R., KRECH, D., BENNET, E.L. Y DIAMOND, M.C., (1.962)

Effects of environmental complexity and training on brain chemistry and anatomy. A replication and extension. J. Comp. Physiol. - 55: 529-537.

ROSSENZWEIG, M.R., BENNET, E.L., HELBERT, M.Y MARIMOTO, H., (1.978)

Social grouping can not account for cerebral effects of enriched environments. Brain Res. 153, 3, 563-576.

RUIZ MARCOS, A. Y VALVERDE, F., (1.969).- 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., (1.970).- Dynamic architecture of

the Visual Cortex. Brain Res. 19: 25-39.

RUIZ MARCOS, A., SANCHEZ-TOSCANO, T., ESCOBAR DEL REY, F. Y MORREALE DE ESCOBAR, G., (1.979 a).-

Severe hypothyroidism and the maturation of the rat cerebral cortex. Brain Res. 162: 315-329.

RUIZ MARCOS, A., SALA, J., Y ALVAREZ, R., (1.979 b).- 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., (1.980).-

Reversible morphological alterations of cortical neurons in juvenile and adult hypotiroidism in the



Brain. Res. 185: 91-102.

RUTLEDGE, L.T., WRIGHT, C. Y DUNCAN, J. (1.974).- Morphological -
changes in pyramidal cells of mammalian neocortex associated with -
increased use. Exp. Neurol. 44: 209-228.

RYNGO, D.K., RYNGO, R., GLOBUS, A. Y KILLACKEY, H.P., (1.975).- In-
creased spine density in auditory cortex following visual or soma -
tic deafferentation. Brain Res. 90: 143-146.

SALAS, M., DIAZ, S Y NIETO, A., (1.974).- Effects of neonatal -
food deprivation on cortical spines and dendritic development of the
rat. Brain. Res. 73: 139-144.

SANCHEZ TOSCANO, F., (1.981).- Leyes de evolución de neuronas cor-
ticales en situaciones normales y patológicas, inducidas experimen-
talmente. Universidad Complutense de Madrid.

SCHADE, J.P., MUTER, K., Y VAN CROENINGEN, W.E., (1.962).- Matura-
tional aspects of the dendrites in the human cerebral cortex. Acta
Morphol. Neerl. Scant. 5 : 37-48.

SCHAPIRO, S., Y VUKOVICH, K. (1.970).- Early experience effects -
upon cortical dendrites: A proposed model for development. Science,
167: 292-294.

UYLINGS, H.B.M., KUYERS, K., DIAMOND, M.C. Y WELTMAN, W.A.M., -

(1.978 a).- Effects of differential environments on plasticity of dendrites of cortical pyramidal neurons in adults rats. Exp. Neurol 62: 658-677.

UYLINGS, H.B.M., KUYPERS, K. Y VELTMAN, W.A.M., (1.978 b).- Environmental influences on the neocortex in later life. In 'Progres in Brain Research' Vol. 48. Maturation of the Nervous System Elsevier. Amsterdam.

VALVERDE, F., (1.967).- Apical dendritic spines of the Visual Cortex and light deprivation in the mouse. Exp. Brain Res. 3: 337-352.

VALVERDE, F., Y RUIZ MARCOS, A., (1.969).- Dendritic spines of the Visual Cortex and light deprivation in the mouse: Introduction to a Mathermathical Model. Exp. Brain Res. 8: 269-282.

VALVERDE, F., (1.971).- Rate of and extent of recovery from dark in the Visual cortex of the mouse. Brain Res. 33: 1-11.

VRENSEN, G. Y CROOT, D., (1.974).- 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.

WIESEL, T. Y HUBEL, D. (1.974).- Ordered arrangement of orientation columns in monkey lacking visual experience. J. Comp. Newrol. 158: 307-318.

WILL, E. B., ROSENZWEIG, M.R. Y BENNET, E.L., (1.976).- Effects of diferencial environments on recovery from neonatal brain lesions, - measured by problem-solving scores and brain dimensions. *Physiol. - and Behav.* 16: 603-611.

WISE, S.P. Y JONES, E.G., (1.978).- Developmental studies of thalamocortical and commissural connections in the rat somatic sensory cortex. *J. Comp. Neurol.* 178, 2, 187-208.

WOLFF, J.R., (1.976).- Quantitative analysis of topography and development of synapses in the Visual Cortex. *En Exp. Brain Res.* - Suppl. 1. Ed. por O. D. Crentzfeldt. Springer. Verlag. Berlín. Págs. 259-263.

