

INVESTIGACIÓN INVESTIGACIÓN 2007



**RECUPERACIÓN DE LA HABILIDAD MOTORA
MEDIANTE TRASPLANTES NEURALES EN RATAS
ADULTAS CON LESIÓN DE LA CORTEZA FRONTAL**

FUNDACIÓN MAPFRE

www.fundacionmapfre.com

Investigador Principal

Margarita Heredia Chons

Universidad de Salamanca

Departamento de Fisiología y Farmacología. Facultad de Medicina

Índice

1.	Resumen de proyecto	4
2.	Desarrollo del proyecto	4
3.	Fase Preoperatoria	4
4.	Fase lesión	5
5.	Fase comportamental post-lesión	6
6.	Trasplantes	6
	6.1. Obtención del tejido donante	6
	6.2. Preparación de los animales huéspedes	7
7.	Fase comportamental post-trasplante	7
8.	Análisis estadístico	8
9.	Resultados	8
10.	Conclusiones	11
11.	Bibliografía	11

1. RESUMEN DE PROYECTO

El objetivo del presente proyecto ha sido investigar los mecanismos involucrados en la recuperación funcional de alteraciones motoras producidas por la lesión de la corteza frontal mediante trasplantes neurales, en ratas adultas. La metodología empleada ha incluido pruebas conductuales, métodos electrofisiológicos y técnicas inmunohistoquímicas e histológicas. Los animales se condicionaron en un test motor específico de habilidad motora fina y se determinó su mano preferente. A continuación, se realizó una lesión en la corteza frontal contralateral a la mano preferente y se evaluó la efectividad de la lesión mediante el test de conducta. Posteriormente, en un grupo de animales lesionados se trasplantó tejido cortical embrionario en la cavidad producida por la lesión; en un segundo grupo, se utilizó tejido fetal amigdalino como tejido donante; y en un tercer grupo, se trasplantó nervio ciático de rata adulta. Estos tres grupos serán comparados con un grupo de animales controles. A los tres meses post-trasplante, tanto los animales con trasplantes de tejido fetal amigdalino como aquellos con trasplantes de tejido cortical mejoraron el déficit motor inducido por la lesión. Por el contrario, los animales con trasplantes de nervio ciático no presentaron ninguna mejora.

2. DESARROLLO DEL PROYECTO

Para la realización del proyecto hemos realizado una serie experimental de ratas Wistar de acuerdo al diseño experimental propuesto, que constó de las siguientes fases: 1) Fase preoperatoria; 2) Lesión de la corteza frontal; 3) Fase post-lesión; 4) Trasplante; 5) Fase post-trasplante; 6) Registros electrofisiológicos; y 7) Estudios inmunohistoquímicos e histológicos.

3. FASE PREOPERATORIA

Tras la recepción de los animales, se realizó la adaptación de los animales a las condiciones del estabulario de nuestro laboratorio durante 7 días. A continuación, los animales fueron separados en jaulas individuales y pesados, considerando dicho peso como el 100% del peso inicial *ad libitum*. El manejo de los animales y los experimentos se realizaron de acuerdo con la Normativa Europea y el Real Decreto 223/1988, sobre protección de los Animales Utilizados para Experimentación y otros Fines Científicos, reduciéndose al máximo el número de animales utilizados para el desarrollo del presente estudio.

En esta primera fase del diseño experimental, los animales se condicionaron en el test de habilidad motora fina. En este test, el animal es condicionado para ejecutar movimientos de gran precisión motora de extensión y flexión de los dígitos con el fin de obtener comida. Para la realización del test, los animales fueron privados de comida hasta alcanzar el 86-88% de su peso *ad libitum*, con el fin

de motivar a los animales para la ejecución de la prueba. El control del peso se realizó pesando a los animales diariamente y administrándoles la comida según el valor del peso de cada día. Para realizar la prueba de conducta, el sujeto experimental se situó en la caja de test en sesiones individuales de 3 minutos de duración, con la habitación iluminada con un foco orientado indirectamente hacia la caja. Cuando el animal accedió a la bandeja que contenía los pellets de pienso, siempre lo hizo con una única mano, lo que permitió determinar la mano preferente del animal.

Caja de test

El test de conducta se realizó en una habitación aislada de ruidos y en condiciones de semioscuridad para asegurar la atención del animal en la prueba. La caja de test consistió en una caja metálica (35 x 22 x 26 cm.), con el suelo de barras metálicas de 3 mm de diámetro, separadas entre sí por una distancia de 12 mm y a una distancia de 2,5 cm del fondo de la caja. Todas sus paredes eran de metacrilato pintadas de negro mate para evitar cualquier reflejo que pudiera distraer al animal durante la prueba, excepto la pared frontal que era de metacrilato transparente con el objeto de que el animal pudiera ser observado por el experimentador. La pared frontal tenía tres agujeros de 2 cm de diámetro cada uno y separados entre sí 5 cm y a una distancia de 7,5 cm del suelo de la caja. Perpendicular a la pared frontal, y separada de ella 1 cm, se colocó una bandeja de 5 cm de ancho, con una hendidura central de 2 cm de ancho y 0,5 cm de profundidad, donde se situaron los pellets de pienso estandarizados de 1 mg de peso. En la figura 1 se muestra una fotografía de la caja de test, observándose la disposición de los agujeros de la pared frontal y la bandeja de pellets.

Si el animal quería consumir comida, tenía que acceder a la bandeja de pellets de pienso, a través de uno de los agujeros de la pared frontal, solamente con una de las manos delanteras (derecha o izquierda) ya que ambas manos no cabían a la vez por los agujeros.

Parámetros evaluados en el test de comportamiento

Durante la prueba de comportamiento, fueron evaluados dos parámetros:

Número total de respuestas: Suma de respuestas correctas e incorrectas realizadas con ambas manos.

Porcentaje de respuestas correctas sobre el número total de respuestas: Porcentaje de respuestas correctas realizadas con la mano preferente con respecto al número total de respuestas realizadas con ambas manos.

Para comprender los parámetros evaluados durante el test de comportamiento, a continuación se define lo que se consideró una respuesta correcta y una respuesta incorrecta durante la ejecución de la prueba.

Respuesta correcta: Se consideró una respuesta correcta cuando el animal realizó una secuencia comportamental adecuada en la caja de test para obtener alimento. Es decir, el animal tenía que acceder a la bandeja de pellets de pienso a través de uno de los agujeros de la

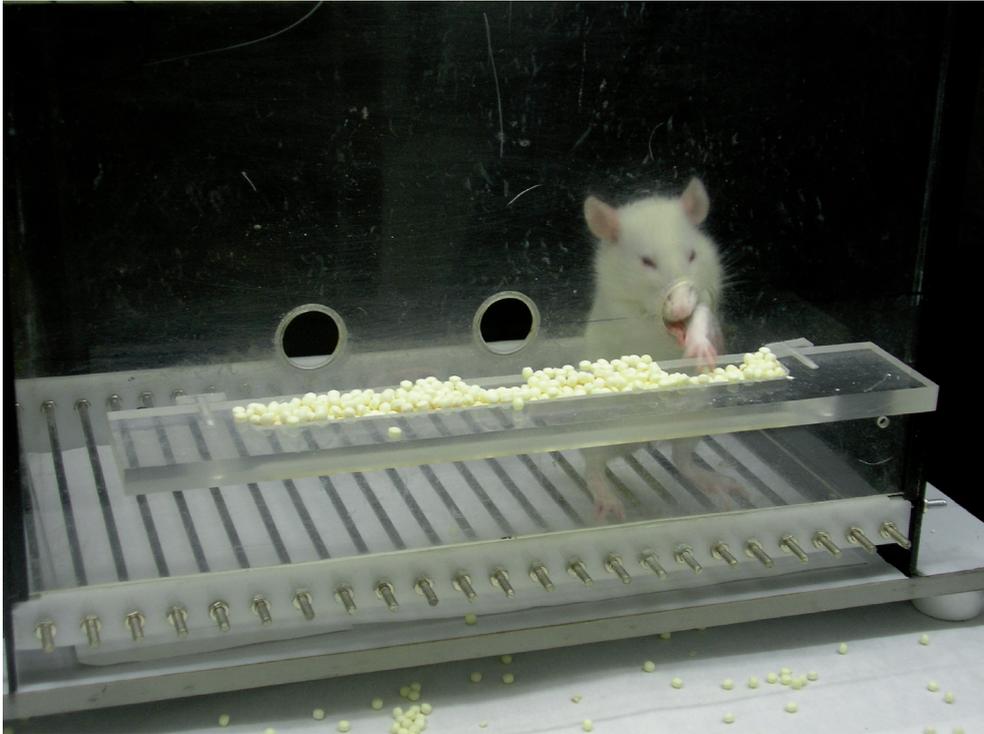


Figura 1. Fotografía de la caja de test utilizada en la prueba comportamental de habilidad motora fina. Se puede apreciar la disposición de los agujeros de la pared frontal, la posición de la bandeja de pienso y las barras inferiores que forman el suelo de la caja. Dentro de la caja se observa una rata durante la realización de una respuesta en la que el animal está introduciendo una de sus manos por un agujero de la pared frontal con el fin de coger un pellet de pienso.

pared frontal, solamente con una de las manos delanteras (derecha o izquierda), tocar el pellet, flexionar los dígitos cogiendo el pellet, introducir la mano con el pellet en la caja de test y llevarse el pellet a la boca.

Respuesta Incorrecta: Se consideró una respuesta incorrecta cuando el animal falló en algunos de los actos de la secuencia comportamental, descrita anteriormente. Es decir, aquella en la que el animal accede a la bandeja de pellets de pienso a través de uno de los agujeros de la pared frontal, toca el pellet, no flexiona bien los dígitos y lo arrastra; por lo tanto el pellet cae en el hueco entre la bandeja y la pared frontal y el animal ya no puede acceder a él; o bien, el animal accede a la bandeja, toca el pellet, flexiona los dígitos cogiendo el pellet, pero no lo lleva adecuadamente a la boca, si no que el pellet cae al fondo de la caja y el animal ya no lo puede recuperar para comérselo.

En esta fase preoperatoria se determinó la mano preferente del animal (derecha o izquierda). Se consideró la mano preferente aquella con la que el animal efectuó al menos el 80% del total de respuestas correctas.

Se consideró que un animal estaba condicionado durante la fase preoperatoria cuando el porcentaje de respuestas correctas fue del 60%, durante 3 sesiones consecutivas. El tiempo medio aproximado para alcanzar el criterio de condicionamiento fue de 10 días. Los valores del número total de respuestas y del porcentaje de respuestas correctas, obtenidos en el test de habilidad motora fina, se utilizaron para la distribución de los animales

en los distintos grupos, de tal forma que no hubiera diferencias significativas entre los grupos, tanto respecto a la media del número total de respuestas como al porcentaje de respuestas correctas.

4. FASE DE LESIÓN

Una vez completada la fase preoperatoria, los animales se distribuyeron en dos grupos, un grupo que fue lesionado en el área de la corteza motora correspondiente a la mano anterior, de acuerdo a las coordenadas estereotáxicas establecidas por Neafsey y colaboradores (1986) para dicha zona, y un grupo control. El grupo control fue sometido al mismo procedimiento quirúrgico que el grupo lesionado, exceptuando la lesión propiamente dicha. Las lesiones se realizaron por aspiración en la corteza motora contralateral a la mano preferente del animal. El objetivo de esta fase fue lesionar la zona de la corteza motora que controla los movimientos de extensión y flexión de los dígitos, necesario para la ejecución del test de habilidad motora fina utilizado en el presente estudio.

Todos los animales permanecieron en ayunas 24 horas antes de la intervención quirúrgica y fueron anestesiados profundamente con Equitesina (1ml/250 gr de peso corporal) antes de ser lesionados.

Para la fijación del cráneo de la rata se utilizó un aparato estereotáxico que permitió, mediante el movimiento

de un manipulador en los tres ejes del espacio, la localización exacta de las coordenadas. Las coordenadas de la lesión fueron las siguientes: Anteroposterior (AP)= 1- 4 mm, anterior a bregma; Lateralidad (L) =1- 3,5 mm, con respecto a la línea media. El límite ventral de la lesión fue el cuerpo caloso.

Una vez que el animal estuvo profundamente anestesiado, se fijó en el aparato estereotáxico, situando los incisivos 5 mm por encima de la línea interaural. Para poder llevar a cabo el proceso de lesión con la máxima precisión, se utilizó una lupa quirúrgica Zeiss con aumentos y luz regulables. Finalizado el proceso quirúrgico, cada animal fue colocado de nuevo en su jaula sobre una lámina de papel de filtro para evitar la obstrucción de las vías respiratorias por la aspiración del polvo de las virutas de serrín, y se mantuvo bajo vigilancia para controlar la pérdida de calor corporal hasta la recuperación total de la actividad, momento en el cual se le suministró agua.

Al día siguiente, una vez que se comprobó que el animal estaba en perfecto estado y que el tránsito intestinal controlado por las defecaciones era correcto, se procedió a suministrarle comida.

5. FASE COMPORTAMENTAL POST-LESIÓN

Una vez recuperados de la operación quirúrgica, todos los animales fueron ensayados de nuevo en el test de habilidad motora fina para comprobar la efectividad de la lesión. Todos los animales se pesaron y se restringió el suministro de alimento para mantener nuevamente su peso en el 86-88% del peso *ad libitum*.

El test conductual se aplicó durante 3 días consecutivos como máximo. Se consideró que la lesión había sido efectiva cuando los animales cambiaron de mano, pasando a utilizar su mano no preferente para obtener la comida, o bien redujeron el porcentaje de respuestas correctas al menos en un 30% comparado con su valor en la fase preoperatoria.

Los animales que durante el test de habilidad motora fina no mostraron lesiones efectivas, fueron sometidos a una nueva intervención quirúrgica, para comprobar el tamaño de la lesión efectuada, aumentando su tamaño en los casos en que fue necesario.

Sólo los animales en los que se comprobó mediante el test de habilidad motora fina que la lesión había sido efectiva pasaron a la fase de trasplante.

Una vez que los animales finalizaron esta fase, fueron alimentados *ad libitum*. Cuando recuperaron su peso se procedió a estabularlos por parejas y a realizar los trasplantes.

6. TRASPLANTES

Sólo los animales con lesiones efectivas fueron sometidos al proceso de trasplante.

Tanto los animales que iban a ser trasplantados (huéspedes) como los animales controles permanecieron en ayunas 24 horas antes de la intervención quirúrgica. Todos los animales fueron anestesiados profundamente antes de ser trasplantados.

La obtención del tejido donante y la preparación del huésped se realizaron simultáneamente con el fin de evitar el almacenamiento del trasplante en suero glucosado, asegurando así su supervivencia. Los trasplantes realizados fueron trasplantes sólidos que se implantaron en la cavidad producida por la lesión en la corteza motora de los animales huéspedes. Se han realizado, trasplantes de tejido cortical implantado homotópicamente en la corteza motora de los animales huéspedes (trasplantes homotópicos) y trasplantes de tejido amigdalino, o de nervio ciático de rata adulta implantados heterotópicamente en la corteza motora de los animales huéspedes (trasplantes heterotópicos).

6.1. Obtención del tejido donante

Tanto para los trasplantes de tejido cortical como para los trasplantes de amígdala, el tejido donante se obtuvo de embriones de rata procedentes de una hembra gestante.

Para los trasplantes homotópicos corticales se utilizó tejido cortical frontal procedente de embriones de 16 días de desarrollo embrionario (E16). Para los trasplantes de amígdala el tejido donante se obtuvo del primordio de la amígdala de embriones de 15 días de desarrollo embrionario. En el caso de los trasplantes de nervio ciático, el tejido donante se obtuvo de rata adulta. La localización en el embrión de la zona correspondiente a los distintos tipos de tejidos donantes utilizados, se realizó de acuerdo al Atlas del Desarrollo Prenatal del Cerebro de Altman y Bayer (1995). Todo el proceso de obtención del tejido donante se realizó en suero glucosado estéril.

La hembra gestante permaneció profundamente anestesiada, a temperatura constante, durante todo el proceso quirúrgico. Se procedió a realizar una incisión en la zona sub-abdominal de la hembra gestante, a través de la cual se tuvo acceso a los dos cuernos uterinos donde se localizaban los embriones. Los embriones se extrajeron uno por uno, comenzando por el extremo del cuerno y manteniendo el resto de los embriones dentro del seno materno hasta su utilización. Una vez extraído el embrión, se eliminó la placenta y se procedió a la disección del cerebro con la ayuda de una lupa.

Para la obtención del tejido donante cortical, se diseccionó el cerebro de un embrión de E16 y, tras la eliminación de las meninges, se obtuvo de cada hemisferio una pequeña pieza de 2 mm³, aproximadamente, del área cortical frontal incluyendo todo el grosor de la corteza, que se trasplantó en la cavidad producida por la lesión en la corteza motora de los animales huéspedes.

La elección de embriones de E16 se basó en estudios previos de trasplantes corticales que indican que esta edad embrionaria es la óptima para la supervivencia y éxito del trasplante. En la figura 2 se presenta un esquema del área cortical frontal del embrión, seleccionada como tejido donante.

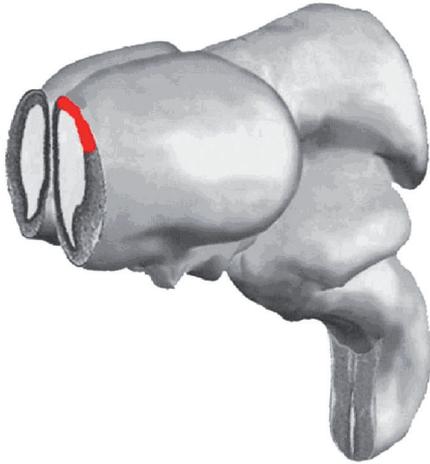


Figura 2. Dibujo tridimensional en el que se detalla (en rojo) la región cortical frontal del cerebro de un embrión de E16 utilizada como tejido donante para los trasplantes homotópicos de tejido cortical.

Para los trasplantes de amígdala, las piezas de tejido obtenidas del primordio de la amígdala tuvieron un volumen de 1 mm^3 aproximadamente. En la figura 3 se muestra un esquema donde se detalla la zona de donde se extrajo el tejido donante amigdalino.

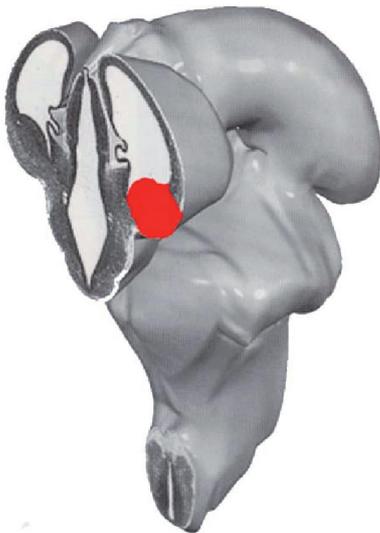


Figura 3. Dibujo tridimensional en el que se detalla (en rojo) el primordio de la amígdala en el cerebro de un embrión de E15 utilizado como tejido donante para los trasplantes heterotópicos amigdalinos.

El tejido donante para los trasplantes de nervio ciático se obtuvo de la rata gestante de la que se obtuvieron los embriones para los trasplantes de tejido embrionario, minimizando así el número de animales utilizados, como establece la normativa vigente sobre experimentación animal. Para la disección del nervio ciático se situó al animal en posición lateral y se realizó una incisión entre los músculos vasto lateral y bíceps femoral, dejando visible el nervio ciático. Una vez extraído el nervio ciático se retiró cuidadosamente el tejido conjuntivo que rodea al nervio y se seccionó en pequeñas piezas, de 2 mm de longitud aproximadamente, que se implantaron en la cavidad producida por

la lesión en el huésped. Una vez completada la obtención de los nervios ciáticos se procedió al sacrificio de la hembra gestante con una sobredosis de anestesia.

6.2. Preparación de los animales huéspedes

Para la realización de los trasplantes cada uno de los animales huéspedes, profundamente anestesiados, se fijó en el aparato estereotáxico. La preparación del animal huésped se realizó simultáneamente a la obtención del tejido donante. Así, en el mismo momento en que la cavidad del huésped estuvo preparada para recibir el trasplante, éste se acababa de extraer del embrión y estaba dispuesto para ser introducido en la cavidad de la corteza motora del animal huésped. En la mayoría de los animales se implantaron 2 piezas de tejido donante, excepto en el caso de los trasplantes del nervio ciático que siempre se implantó una pieza. Para manipular las piezas de trasplante e introducir las en la cavidad del huésped se utilizó un capilar de vidrio transparente unido a una jeringa de insulina. La localización de las piezas de tejido una vez trasplantadas en la cavidad del huésped fue controlada en todo momento del proceso a través de una lupa quirúrgica, asegurando así la posición de las mismas dentro de la cavidad. Una vez colocados los trasplantes en la cavidad y verificada la posición de éstos, se retiró el líquido sobrante para evitar que el tejido trasplantado pudiera salir de la cavidad. Encima del tejido trasplantado se situó un pequeño trozo de espongoestán y, finalmente, se suturó la piel.

Tras la realización de los trasplantes se dejó que el trasplante se desarrollase durante un periodo de 3 meses aproximadamente, al cabo de los cuales se realizó de nuevo el test de conducta para evaluar el efecto del trasplante sobre el déficit motor producido por la lesión.

7. FASE COMPORTAMENTAL POST-TRASPLANTE

Aproximadamente tres meses después de la realización de los trasplantes, los animales fueron separados en jaulas individuales. Se procedió a pesarlos y se restringió de nuevo la alimentación hasta alcanzar el 86-88% de su peso *ad libitum*. Posteriormente, todos los animales fueron evaluados en el test de habilidad motora fina para valorar el efecto del trasplante sobre el déficit motor causado por la lesión. Los animales fueron evaluados en el test de conducta durante 3 sesiones, en las mismas condiciones que durante las fases preoperatoria y post-lesión, es decir, el animal podía acceder libremente con ambas manos a los pellets situados en la bandeja de la caja de test. Tras esta primera etapa de acceso libre a la comida, se procedió a obligar a los animales a utilizar su mano preferente (mano afectada por la lesión), mediante la colocación de un brazaletes en su mano no preferente, el cual impedía que el animal pudiera coger los pellets con dicha mano. Así pues, si el animal quería acceder a la comida, sólo le cabía la posibilidad de utilizar la mano preferente.

El brazalete consistió en una pieza gruesa de gasa sujeta a la pata del animal mediante esparadrapo (Figura 4). El brazalete no le impidió al animal movimientos, como la flexión de los dígitos para apoyar la mano sobre los agujeros de la pared frontal. El brazalete solo se le colocó al animal en el momento de realizar el test conductual. Los animales se evaluaron durante 7 sesiones individuales de 3 minutos de duración.



Figura 4. Fotografía de un animal con el brazalete colocado en su mano no preferente, para forzar el uso de la mano preferente en el test de habilidad motora fina.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados comportamentales se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA). Para las

comparaciones de los distintos grupos en la fase post-trasplante, se empleó ANOVA de dos vías (grupo x sesión). Cuando el ANOVA de dos vías mostró diferencias significativas entre los grupos ($p < 0,05$), se procedió a realizar ANOVAs comparando todos los grupos en cada una de las sesiones. Para comparar las medias de cada grupo en cada una de las sesiones se utilizó el test de Newman-Keul.

9. RESULTADOS

Resultados comportamentales

Los resultados obtenidos han puesto de relieve que tanto los animales con trasplantes de tejido fetal amigdalino como aquellos con trasplantes de tejido cortical presentaron una mejoría del déficit motor producido por la lesión. Esta mejoría fue evidente cuando los animales fueron obligados a utilizar la mano afectada por la lesión (resultados post-trasplante “con brazalete”). Por el contrario, los animales con trasplantes de nervio ciático no presentaron ninguna mejoría del déficit motor.

En la figura 5 se representa la media del porcentaje de respuestas correctas con la mano preferente sobre el número total de respuestas con ambas manos, en el test de habilidad motora fina. Están representados los resultados obtenidos en la fase preoperatorio (PRE), en la fase post-lesión (PL) y en la fase post-trasplante. En esta última fase, los animales fueron evaluados en dos condiciones: 1) Con libre acceso a la comida; y 2) Con el uso obligado de la mano preferente (con brazalete). Los niveles de significación son con respecto al grupo control.

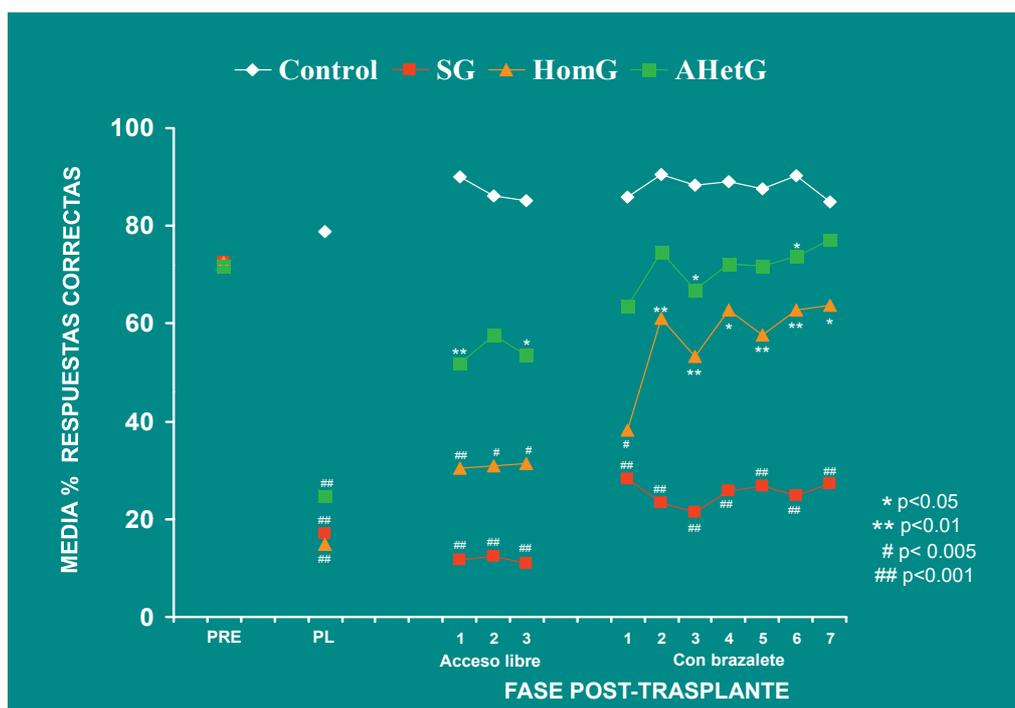


Figura 5. Media del porcentaje de respuestas correctas con la mano preferente sobre el número total de respuestas, en el test de habilidad motora fina. Los niveles de significación son con respecto al grupo control.

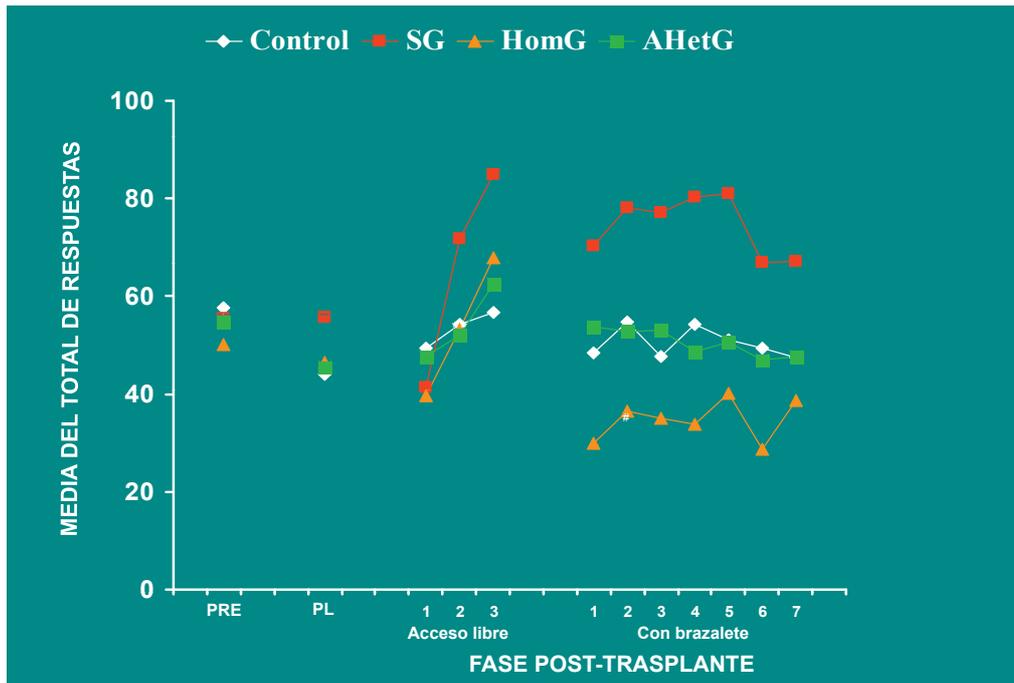


Figura 6. Media del número total de respuestas (correctas más incorrectas) con ambas manos, en el test de habilidad motora fina.

Con respecto al número total de respuestas no se observaron diferencias significativas entre los cuatro grupos. En la figura 6 se representa la media del número total de respuestas (correctas más incorrectas) con ambas manos, en el test de habilidad motora fina. Se presentan los datos obtenidos en las fases preoperatoria (PRE), post-lesión (PL) y post-trasplante.

Resultados electrofisiológicos e inmunohistoquímicos

Una vez completados los estudios conductuales unos animales se destinaron a la caracterización electrofisiológica de las neuronas trasplantadas y otros animales se destinaron a los estudios inmunohistoquímicos e histológicos de los trasplantes.

De acuerdo a la metodología presentada, se han realizado registros intracelulares en secciones de cerebro “*in vitro*” utilizando técnicas de fijación de corriente.

Los registros electrofisiológicos han presentado cierta dificultad metodológica a la hora de obtener las rodajas de cerebro conteniendo el trasplante, debido a que las ratas en esta etapa tuvieron ya 6 meses de edad, aproximadamente, lo que dificultó la extracción del cerebro; y, por otra parte, porque los cerebros tienen que ser seccionados, sin fijar, en un vibratomo, para obtener las rodajas de 400 μm . Así, en algunas ocasiones al pasar la cuchilla del vibratomo por el trasplante, éste se desprendió del cerebro huésped y en otros casos la rodaja que se obtuvo no fue todo lo óptima que se desearía para el estudio electrofisiológico de las neuronas del trasplante. Esta dificultad fue más acentuada en los animales con trasplantes de tejido fetal amigdalino en comparación con los animales con trasplantes de tejido cortical (homotópicos), dado que los trasplantes heterotópicos amigdalinos fueron más pequeños y

generalmente están rodeados de un tejido conjuntivo de tipo mixoide que dificultó aún más la obtención de rodajas en el vibratomo.

Los registros electrofisiológicos de neuronas de trasplantes homotópicos han permitido caracterizar 2 tipos electrofisiológicos de neuronas en el trasplante: 1) neuronas de descarga múltiple, y 2) neuronas de descarga en ráfaga o “burst”. Estos 2 tipos de respuesta fueron similares a las encontradas en la corteza motora de animales controles. En todas las neuronas registradas, la estimulación extracelular intra-trasplante evocó una respuesta excitatoria postsináptica (PEPs). Esta respuesta presentó una amplitud variable dependiendo de la intensidad del estímulo. Por otra parte, algunas neuronas registradas mostraron también conexiones con la corteza adyacente del huésped.

De acuerdo al diseño experimental, una vez completados los estudios conductuales post-trasplante, algunos animales fueron destinados al estudio de los neurotransmisores utilizados por las neuronas del trasplante utilizando métodos inmunohistoquímicos. En este sentido, hemos investigado la presencia de acetilcolina, mediante la técnica inmunohistoquímica para colina acetiltransferasa (ChAT), enzima involucrada en la síntesis de acetilcolina, y del ácido gamma-amino butírico (GABA), mediante el empleo de anticuerpos frente al enzima ácido glutámico descarboxilasa (GAD), enzima limitante en la síntesis de GABA.

Los resultados obtenidos en animales con trasplantes de tejido cortical han puesto de relieve la presencia de neuronas inmunopositivas para colina acetiltransferasa y GAD en el trasplante, presentando estas células diferentes tamaños y morfologías.

Los resultados electrofisiológicos e inmunohistoquímicos obtenidos en el presente proyecto nos han per-

mitido completar estudios iniciados con anterioridad. Estos resultados han sido aceptados para su publicación en la revista *Journal Neurotrauma* (Santos Torres et al. 2009), figurando en dicha publicación que el trabajo ha sido financiado, entre otros, por la Fundación Mapfre.

Resultados histológicos

En los animales que fueron trasplantados con tejido fetal cortical (homotópicos) o con tejido fetal amigdalino, la tasa de supervivencia del trasplante fue del 100%, a los tres meses post-trasplante. En los animales con trasplantes de nervio ciático se observó, en algunos pocos casos, la supervivencia del trasplante; si bien en la mayoría de los animales el trasplante no sobrevivió a los 3 meses post-trasplante.

Tanto los trasplantes de tejido cortical como los trasplantes de tejido amigdalino presentaron diferentes tamaños. Los trasplantes de tejido amigdalino fueron en general más pequeños que los trasplantes de tejido cortical y aparecieron, generalmente, rodeados de un tejido conjuntivo de tipo mixoide en continuidad con el tejido meníngeo cerebral.

Con respecto a la citoarquitectura de los trasplantes, tanto en los trasplantes de tejido cortical como de tejido amigdalino, los trasplantes estaban constituidos por agrupaciones de células separados por haces de fibras, presentando las células diferentes tamaños (Figura 7). En ningún caso, se observó la estratificación característica de la corteza normal del huésped. La interfase trasplante-huésped fue en general evidente sobre todo en los trasplantes heterotópicos amigdalinos y se caracterizó por la presencia de fibras que rodeaban el trasplante.

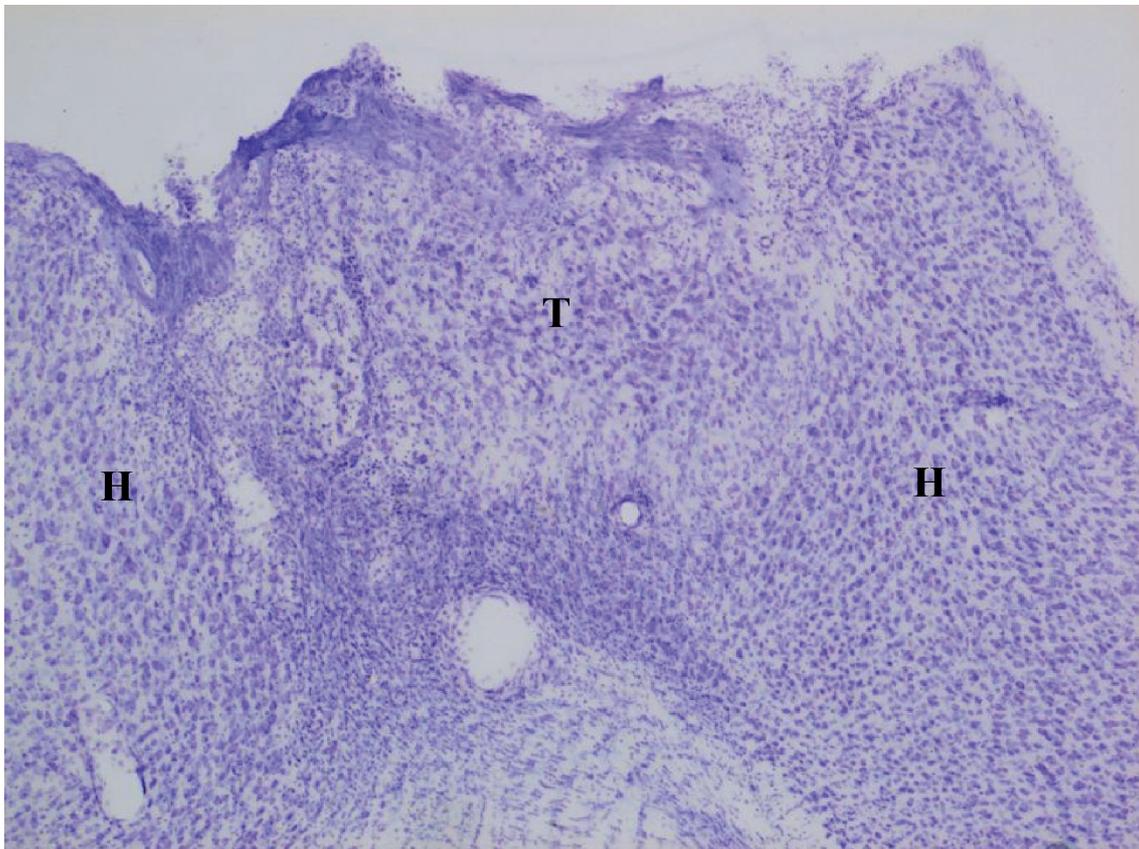


Figura 7. Sección coronal de un trasplante de tejido fetal amigdalino, teñido con violeta de cresilo. T: trasplante, H: huésped.

10. CONCLUSIONES

1. La lesión de la corteza frontal motora, en ratas adultas, induce un déficit en el test conductual de habilidad motora fina.
2. Tanto los trasplantes de tejido amigdalino embrionario como los trasplantes de tejido cortical embrionario inducen una mejoría/recuperación del déficit motor en la habilidad motora fina causado por la lesión de la corteza frontal.
3. La mejoría inducida por los trasplantes de tejido cortical o amigdalino fue más evidente cuando los animales fueron obligados a utilizar la mano afectada por la lesión.
4. Los animales con trasplantes de nervio ciático no presentaron mejoría del déficit motor producido por la lesión.
5. Los trasplantes de tejido cortical o amigdalino sobrevivieron después de tres meses de su implantación en la cavidad producida por la lesión.
6. Las características electrofisiológicas de las neuronas de los trasplantes de tejido cortical fueron similares a las de las neuronas de la corteza normal. Las neuronas de los trasplantes presentaron conexiones intra-trasplante y con la corteza adyacente del huésped.
7. Las células de los trasplantes de tejido cortical presentaron metabolismo para neurotransmisores excitatorios (neuronas inmunopositivas para el enzima colina acetiltransferasa) e inhibitorios (neuronas inmunorreactivas para el enzima ácido glutámico decarboxilasa).

11. BIBLIOGRAFÍA

- Altman, J., Bayer S.A. (1995). "Atlas of prenatal rat brain development". Boca Ratón, Florida, CRC Press Inc.
- Neafsey, E. J., Bold, E. L., Haas, G., Hurley-Gius, K. M., Quirk, G., Sievert, C. F. and Terreberry, R. R. (1986). The organization of the rat motor cortex: a microstimulation mapping study. *Brain Res* 396 (1) : 77-96.