

Efecto en corteza cerebral por interrupción de binocularidad en ratas. Análisis de neurotransmisores por cromatografía líquida de alta resolución

Dra. M. Rosario Salas-Cervantes*, **Dra. Silvia Moguel-Ancheita***, **Dra. Alejandra Etulain-González***,
Dr. Sigfried Figueiroa-Barcob*, **Dr. German Glennie-Graue***, **Biol. Marcela Palomera****

RESUMEN

Objetivos: Identificar cuáles son los cambios a nivel de corteza cerebral que se suscitan tras la interrupción de la visión binocular, identificar los neurotransmisores en corteza cerebral más alterados ante la interrupción de la binocularidad y correlacionar los cambios conductuales y la neuroadaptación posterior a la suspensión de la binocularidad.

Material y métodos: Se diseñó un estudio prospectivo, transversal, experimental y comparativo, del 25 septiembre del 2004 al 01 de marzo del 2005 en la división de investigación del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE. Se utilizaron 30 ratas de la cepa Wistar, 15 hembras y 15 machos, de un mes de edad y de 80 a 100 g de peso.

Los animales fueron colocados en jaulas de acrílico, con libre acceso al agua y al alimento (nutri-cubo, Purina, USA). Los animales se dividieron en cinco grupos experimentales: Grupo 1: Ratas control (n=6); Grupo 2: Ratas (n=6) con oclusión unilateral de 72 h; Grupo 3: Ratas (n=6) con oclusión unilateral de 1 semana; Grupo 4: Ratas (n=6) con oclusión unilateral de 2 semanas; Grupo 5: Ratas (n=6) con oclusión unilateral de 3 semanas. La interrupción de la binocularidad se llevó a cabo mediante tarsorrrafia unilateral de OD, con seda 6 ceros, bajo sedación con éter.

Previo a la oclusión y posterior a la misma en todos los grupos se midieron la memoria de corto y largo plazo con una prueba de prevención pasiva. Los animales fueron sacrificados y se midieron catecolaminas por medio de HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Resolución).

Resultados: Los resultados muestran que los niveles de neurotransmisores y la memoria se alteran en respuesta a los cambios en la binocularidad.

Conclusiones: La falla de la binocularidad provoca un déficit en el sistema sensoriomotor cortical secundario a la transmisión de una información inadecuada, esto es evidente con los defectos conductuales y de aprendizaje y memoria sucedidos en los animales del presente estudio y correspondiente a los niveles de neurotransmisores reportados a diferentes niveles del Sistema Nervioso Central.

Palabras clave: Visión binocular; neurotransmisores, neuroadaptación.

SUMMARY

Objectives: To identify which changes are present at the brain cortex after the interruption of binocular vision. To identify which is the most altered neurotransmitters and relate the behavioral changes with the neural adaptation after the lack of binocular vision.

Material and methods: A prospective, transversal, experimental and comparative study was designed, from September 25th 2004 to March 1st 2005. Thirty, 1-month old Wistar rats were used, 15 females and 15 males of 80 to 100 gr. All animals were placed into acrylic cages, with free access to food and water (nutri-cubo, Purina, USA), the animals were divided into 5 experimental groups: Group 1: Control rats (n=6); Group 2: rats with 72 hours of unilateral eye occlusion (n=6); Group 3: rats with 1 week of unilateral eye occlusion (n=6); Group 4: rats with 2 weeks of unilateral eye occlusion (n=6); Group 5: rats with 3 weeks unilateral eye occlusion (n=6). The interruption of binocular vision was achieved by performing a unilateral right eye tarsorrhaphy with 6-0s silk under ether sedation.

Before and after the eye occlusion a memory prevention passive test of short and long terms was performed. All animals were scarified and catecholamine were measured by HPLC (High resolution liquid chromatography)

Results: The results showed alteration in the levels of neurotransmitters and memory in response to the changes of binocular vision.

Conclusions: A failure of binocular vision, provoke a deficit in the cortical sensor-system. This is evident in the behavior, learning and memory presented in the animals of this study in relation with the amount of neurotransmitters reported at different levels of the Central Nervous System.

Key words: Binocular vision, neurotransmitters, neural adaptation.

* Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE. ** Universidad Autónoma de México.

Correspondencia: Dra. M. Rosario Salas Cervantes. Av. Roberto Gayol 421 int 304. Col. del Valle. Del. Benito Juárez. C.P. 03100. Tel 55598962, Cel: 5515106399, E-mail: drasharyc2002@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

Función visual

El acto visual es la unión en una sola sensación consciente de lo que cada ojo percibe de forma independiente. Para esto se requiere una adecuada posición de los ojos, una captación y transmisión adecuadas de las imágenes y una integración de éstas a nivel cerebral.

El desarrollo de la visión en los niños se produce de forma cronológica, mediante la maduración neurológica. Por esto los primeros años de vida son cruciales para un adecuado desarrollo de la visión. Cualquier obstáculo a la estimulación de las fóveas producirá una detención, y regresión en algunos casos, en el desarrollo de la visión(1, 2).

La disminución de la visión, por detención en su desarrollo, ocurre en un ojo que no puede mejorarse inmediatamente con la refracción y que no puede explicarse íntegramente por una lesión orgánica del sistema óptico. La ambliopía puede ser bilateral en caso de privación visual bilateral, por ejemplo en cataratas congénitas o ametropías altas. Su frecuencia oscila entre 1.5% y 4% de la población y se origina por una pérdida de estimulación ocular correcta. Es la causa más frecuente de pérdida de visión en la población infantil (2). Los niños con ambliopía profunda tienen el peligro de incapacidad importante si pierden el ojo normal a causa de lesión traumática. La ambliopía tiene, además, consecuencias económicas y sociales. Muchos trabajos requieren visión normal en cada ojo, excluyéndose por tanto a estos pacientes (2).

Del procesamiento cortical de la información proveniente de la vía óptica, que en condiciones normales llega simultáneamente de ambos ojos, surge una percepción final: la visión. La visión binocular es el resultado del desplazamiento anterior de los globos oculares, de la presencia de una mácula única y altamente discriminativa en cada ojo, de la creciente decusación de las fibras a nivel quiasmático, de la laminación del cuerpo geniculado externo y del desarrollo de una cada vez mayor y más diferenciada corteza visual, lo que lleva a una visión binocular de alta diferenciación, conocida como estereopsis, que nos da sentido de tercera dimensión y aparece también a los seis meses de edad (2, 3).

La percepción simultánea, la fusión, y la estereopsis ocurren todas simultáneamente como tres fenómenos distintivos constituyendo la visión binocular única. La interrupción de la visión binocular en una edad crítica dará como resultado alteraciones sensoriales que impedirán el desarrollo normal del individuo (2, 3). Los cambios orgánicos sucedidos a nivel de corteza cerebral están representados por los niveles de neurotransmisores requeridos (1, 2, 4-9).

La plasticidad sináptica explica la recuperación de la función y la compensación que sigue a una lesión neurológica, mediante la modificación funcional y reorganización estructural del sistema nervioso. Estos cambios han sido demostrados a través de la investigación en modelos animales y en humanos. En dichos estudios se ha determinado que existen períodos críticos en el desarrollo de las funciones neu-

rológicas como la visión o la sustitución sensorial; ejemplo de esto es la rehabilitación en gatos ambliopes (1, 7, 9, 10).

Para comprender estos experimentos y sus implicaciones es importante describir brevemente la organización y el desarrollo del sistema visual de los mamíferos. En sus experimentos, considerados ya clásicos, Hubel y Wiesel asignaron neuronas a cada una de las siete categorías de dominancia ocular (1, 8, 9). Procedieron entonces a cerrar el ojo de un gato recién nacido y lo dejaron así hasta que el animal llegó a la edad adulta (aproximadamente seis meses), encontrando cambios notables. Los registros electrofisiológicos mostraban que se podían activar muy pocas células del ojo que había permanecido cerrado; la distribución de la dominancia ocular se había desplazado, de modo que las células eran activadas por el ojo que había quedado abierto. Los registros de las estructuras periféricas (retina, cuerpo geniculado lateral) funcionaban y, por lo tanto, la ausencia de neuronas corticales no se debía a degeneración retiniana o retinotalámica sino a desconexión funcional en la corteza visual, la cual generaba ceguera cortical o ambliopía permanente o casi permanente. De tal suerte, se demostró que la experiencia visual en la etapa durante la cual se abren los ojos del gato (aproximadamente una semana después del nacimiento) determina cómo se producen las conexiones de la corteza visual respecto a la dominancia ocular, y que el cierre ocular tiene repercusiones sólo si la privación se desarrolla durante los tres primeros meses de vida (1, 7-9, 11). Esto es lo que se denomina período crítico, y sugiere que los sistemas neuronales, en particular los sensoriales, tienen gran plasticidad durante la etapa de desarrollo, muy breve para algunas funciones; de aquí la importancia de conocer y aprovechar esta etapa.

A partir de los anteriores hallazgos, Chown y Steward se plantearon una pregunta: ¿puede obtenerse recuperación de la visión con un apropiado programa de entrenamiento? Estos investigadores demostraron que no sólo es posible obtener respuesta funcional (visión) sino incluso cambios fisiológicos (incremento en el número de células binucleares en la corteza visual) y morfológicos (cambios en el ganglio geniculado lateral). Su estudio se considera uno de los más importantes en animales y aporta datos trascendentes extrapolables a la neurorehabilitación en humanos, con la perspectiva de posibles aplicaciones en la rehabilitación humana, y propuso que, en un modelo con ratas, los ambientes enriquecidos con jaulas con cierto número de juguetes u otros estímulos, inducen cambios morfológicos, fisiológicos, neuroquímicos y conductuales.

Rosenzweig, en sus experimentos acerca de enriquecimiento ambiental, realizó estudios experimentales en animales y estudió el papel de los neurotransmisores en la recuperación del daño cerebral. Feeney y colaboradores observaron que, después de una lesión de corteza sensoriomotora en ratas, se obtenía recuperación motora más rápida con la estimulación de catecolaminas en el cerebro y un programa de rehabilitación. Estudios ulteriores demostraron el papel del *locus coeruleus* y del cerebelo. Investigaciones en humanos han eviden-

ciado que si se combina con rehabilitación, la manipulación de neurotransmisores puede incrementar la recuperación de pacientes con enfermedad vascular cerebral, y mejoría en la visión de un ojo ambliope de larga evolución después de la pérdida del ojo sano. La necesidad de ver lleva a los sujetos a la autorehabilitación que puede ser considerada tardía. En estos casos la visión mejora en el ojo ambliope con rehabilitación especial, lo cual revela plasticidad en el cerebro del adulto (1,12-15).

Neurotransmisión

Un neurotransmisor (NT) es una sustancia química liberada selectivamente de una terminación nerviosa por la acción de un potencial de acción (PA), que interacciona con un receptor específico en una estructura adyacente y que, si se recibe en cantidad suficiente, produce una determinada respuesta fisiológica. Para constituir un NT, una sustancia química debe estar presente en la terminación nerviosa, ser liberada por un PA y, cuando se une al receptor, producir siempre el mismo efecto (10, 16).

Los neurotransmisores pueden ser de diferentes tipos:

- Acetilcolina
- Aminas biógenas
 - Dopamina
 - Noradrenalina
 - Adrenalina
 - Serotonina
 - Histamina
- Aminoácidos
 - Ácido gamaaminobutírico
 - Glicina
 - Glutamato

Acetilcolina

Está bien establecido que la acetilcolina es el transmisor en la unión neuromuscular y en muchas áreas del SNC. La acetilcolina se elabora a partir de la colina, cuyo origen en general es la dieta, y de la acetilcoenzima A, que proviene de la glucosa a través de varios pasos metabólicos que ocurren en las mitocondrias. Existen neuronas que responden a la acetilcolina en muchas partes del cerebro, y de acuerdo con la región que se estudie, este neurotransmisor puede tener efectos excitadores o inhibidores. Los receptores colinérgicos han sido divididos en dos tipos: los muscarínicos y los nicotínicos. Estos términos se refieren a los efectos de la muscarina, sustancia proveniente de un hongo (*Amanita muscaria*) que tiene efectos similares a los de la nicotina, contenida en el tabaco, y de la acetilcolina. La muscarina, en general, estimula los receptores colinérgicos, mientras que la nicotina primero los estimula y después los bloquea. Se ha relacionado a la acetilcolina con funciones mnésicas (las ligadas a la memoria), así como en la transmisión del dolor, el calor y los sabores. También en la regulación de los movimientos voluntarios y en el control del ciclo sueño-vigilia. Muchas de las pruebas que originaron estas hipótesis funcionales se obtuvieron por el uso de agonistas (sus-

tancias que imitan el efecto de la sustancia en cuestión) y antagonistas colinérgicos. Por ejemplo, la oxotremorina y la arecolina, agonistas muscarínicos, producen temblor que se bloquea con atropina, antagonista muscarínico por excelencia. La nicotina también produce temblor, pero no puede antagonizarse con atropina. Esto sugiere que ambos tipos de receptor (muscarínico y nicotínico) participan en el temblor. También se ha visto que microinyecciones de agonistas colinérgicos en el tallo cerebral pueden afectar el ciclo sueño-vigilia. De estos aspectos funcionales hablaremos más adelante, cuando tratemos las drogas utilizadas en la enfermedad de Parkinson y de fármacos que inducen sueño (los hipnóticos). En ciertas enfermedades neurológicas, claramente se han identificado anticuerpos contra el receptor colinérgico del músculo esquelético, como en casos de pacientes con miastenia gravis. En otros padecimientos cerebrales, el papel de la acetilcolina es menos claro, aunque de acuerdo con los efectos de agonistas y antagonistas, se ha propuesto que participa en padecimientos como la corea de Huntington y las enfermedades de Parkinson y Alzheimer.

Aminas biógenas

Serotonina

Dentro de ellas se encuentra la serotonina (5-hidroxitriptamina) (5-HT) que se origina en el núcleo del rafe, las neuronas de la línea media de la protuberancia y el mesencéfalo. Deriva de la hidroxilación del triptófano mediante la acción de la triptófano-hidroxilasa que produce 5-hidroxitriptófano; éste es descarboxilado, dando lugar a la serotonina. Los niveles de 5-HT están regulados por la captación de triptófano y por la acción de la monoaminooxidasa (MAO) intraneuronal. La serotonina ha sido el neurotransmisor que más ha influido en el campo de la neuropsiquiatría. La mayoría de los llamados alucinógenos posee efectos serotonínergicos, además de cierto parecido estructural con la serotonina misma. Cuando se detectó la presencia de la 5-HT en el cerebro aparecieron las teorías que relacionaban a este neurotransmisor con varias formas de enfermedades mentales. La serotonina participa en el control de los estados de sueño y vigilia, el ánimo, las emociones y algunos tipos de depresión, conducta suicida y ciertos estados alucinatorios inducidos por drogas.

Dopamina

La dopamina es el NT de algunas fibras nerviosas y periféricas y de muchas neuronas centrales (p.ej., en la sustancia negra, el diencéfalo, el área tegmental ventral y el hipotálamo). El aminoácido tirosina es captado por las neuronas dopaminérgicas y convertido en 3,4-dihidroxifenilalanina (dopa) por medio de la tirosina-hidroxilasa. La dopa se descarboxila hasta dopamina por la acción de la descarboxilasa de l-aminoácidos aromáticos (10, 15). Tras ser liberada, la dopamina interactúa con los receptores dopaminérgicos y el complejo NT-receptor es captado de forma activa por las neuronas presinápticas. La tirosina-hidroxilasa y la MAO regulan las tasas de dopamina en la terminación nerviosa.

El sistema dopaminérgico controla la motilidad voluntaria y las funciones cognoscitivas, su aumento produce hiperactividad psicomotora e hiperactividad psíquica propia de la manía, favorece la secreción de prolactina y paratohormona, facilita el esfuerzo y la motivación para el aprendizaje, su déficit es responsable del Parkinson y su exceso produce esquizofrenia. En pacientes deprimidos disminuye en forma secundaria a la disminución de noradrenalina (10, 15).

Noradrenalina

La noradrenalina es el NT de la mayor parte de las fibras simpáticas posganglionares y muchas neuronas centrales (p. ej., en el *locus ceruleus* y el hipotálamo). El precursor es la tirosina, que se convierte en dopamina, ésta es hidroxilada por la dopamina b-hidroxilasa a noradrenalina.

Cuando se libera, ésta interactúa con los receptores adrenérgicos, proceso que finaliza con su recaptación por las neuronas presinápticas, y su degradación por la MAO y por la catecol-O-metiltransferasa (COMT), que se localiza sobre todo a nivel extraneuronal. La tirosina-hidroxilasa y la MAO regulan los niveles intraneuronales de noradrenalina. Existe una gran cantidad de enfermedades en las que, de una forma u otra, están implícitas las funciones de los agonistas adrenérgicos naturales, la adrenalina y la noradrenalina. Así, se ha sugerido que en algunos trastornos mentales, como son los estados maníacos y los depresivos, existe una alteración en el metabolismo y función de estas catecolaminas. En la hipertensión arterial tienen una función importante y de hecho algunos de los fármacos que se usan para su tratamiento son agentes con propiedades adrenérgicas (10).

Adrenalina

Esta sustancia pertenece al grupo de las catecolaminas, que también incluyen a la dopamina. A diferencia de la acetilcolina, las catecolaminas muestran una distribución bastante desigual en el sistema nervioso, es decir, hay áreas donde son muy abundantes y en otras son muy escasas. Actualmente conocemos con bastante detalle cómo se forman las catecolamina en el interior del cerebro, en las células cromafines (de la glándula suprarrenal) y en los nervios y ganglios del sistema simpático. A partir del aminoácido l-tirosina, la enzima tirosina-hidroxilasa (TH) lo convierte en DOPA (dihidroxifenilalanina) y ésta se transforma, por la DOPA-descarboxilasa, en dopamina. Ésta, a su vez, puede transformarse en aquellas células que contengan la enzima dopamina-b-hidroxilasa (DBH), en noradrenalina. La noradrenalina puede convertirse en adrenalina por otra transferencia de metilos, a cargo de la fenil-etanol-amina-N-metiltransferasa (PNMT). La tirosina-hidroxilasa parece ser el paso limitante de todas estas reacciones. Es decir, se trata del paso enzimático crítico en la síntesis de las catecolaminas. Como consecuencia del desarrollo de agonistas y antagonistas catecolaminérgicos específicos se ha podido establecer la existencia de varios tipos de receptores adrenérgicos. Clásicamente se les ha dividido en dos familias: los a y los b- adrenérgicos. Ahora se sabe que al interior de estas familias existen otros subtipos. Así, se conocen hasta la fecha tres tipos de receptores b (1, 2 y 3), cuatro

a-1 (A, B, C y D) y tres a-2 (A, B y C), de acuerdo con sus efectos sobre las llamadas proteínas G, aunque este número puede aumentar. Las proteínas G representan una familia de segundos mensajeros que traduce la señal dada por la ocupación del receptor de membrana al lenguaje neuronal intracelular a través de la activación o inhibición enzimática. Así tendremos proteínas G estimuladoras y proteínas G inhibidoras. En el SNC se ha asociado la presencia de receptores a-1, a-2 y b-1 con neuronas, y los b-2 con la glía y células vasculares. Los receptores adrenérgicos están sujetos a varios tipos de regulación. Su número puede aumentar o disminuir, lo mismo que su sensibilidad a fármacos (por ejemplo después del uso crónico de los mismos).

Histamina

La histamina se ha relacionado clásicamente con los fenómenos alérgicos. A nivel periférico, una reacción alérgica puede producir la aparición de urticaria, comezón, enrojecimiento de la piel, constricción bronquial, etc. Estas reacciones alérgicas pueden disminuirse con antihistamínicos, agentes farmacológicos que muestran efectos a nivel del sistema nervioso. Este hecho, aunado al de la imposibilidad para la histamina que circula por la sangre de atravesar la barrera hematoencefálica, hizo pensar que esta sustancia podría ser un neurotransmisor que se producía en el cerebro. La detección neuroquímica de la síntesis de histamina por las neuronas, junto con la particular distribución de estas neuronas histaminérgicas en el sistema nervioso, ha apoyado esta sospecha. La histamina se concentra particularmente en el hipotálamo. De allí, estas células envían sus fibras en forma difusa a todo el sistema nervioso, tal como lo hacen las demás neuronas aminérgicas.

Se han descrito tres tipos principales de receptores a la histamina. El H1, descrito en neuronas, glía y células vasculares, es el más prominente y parece actuar por medio de la movilización de calcio intracelular. Los receptores H2 están relacionados directamente con la adenilato-ciclasa, y los H3, los más sensibles a la histamina, se concentran a nivel de los ganglios basales y el bulbo olfatorio.

Aminoácidos neurotransmisores

Aminoácidos inhibidores: el GABA y la glicina

El sistema nervioso contiene gran cantidad de aminoácidos extremadamente activos para lograr el funcionamiento neuronal.

El GABA se forma a partir de otro aminoácido también abundante en el cerebro: el 1-glutamato. Paradójicamente, este precursor es, a su vez, neurotransmisor, pero esta vez excitador.

La enzima que hace esta conversión es la glutamato-descarboxilasa (GAD), de la que se han encontrado dos formas diferentes; ambas producen GABA y están codificadas en diferentes genes; sin embargo, no sabemos aún el porqué. La GAD necesita para su funcionamiento de vitamina B6 (fosfato de piridoxal). Las neuronas GABAérgicas muestran una distribución difusa, lo que sugiere que funcionan como inter-

neuronas. Existen, sin embargo, algunas vías GABAérgicas algo más largas como la estriadonigral y la cerebelo-vestibular. Existen numerosas sustancias que interactúan con receptores GABAérgicos. Todas las que interfieren con su funcionamiento producen aumento de la excitabilidad cerebral hasta el punto de producir crisis convulsivas.

El otro neurotransmisor inhibidor de importancia, particularmente en el tallo cerebral y la médula espinal, es la glicina. Su efecto es similar al del GABA: hiperpolarización (inhibición) por aumento de la conductancia al cloro. Esta inhibición puede ser antagonizada por la estricnina, otra sustancia convulsivante.

Aminoácidos excitadores: el glutamato y el aspartato

Estas sustancias se encuentran particularmente concentradas en el sistema nervioso, y ejercen potentes efectos excitadores sobre la actividad neuronal. Se ha detectado aumento de la concentración extracelular de glutamato después de crisis convulsivas o accidentes isquémicos (por falta de irrigación sanguínea) o hipóxicos (por falta de oxígeno). Parte de las pruebas de estos hallazgos radican en el uso de antagonistas del receptor del glutamato, que han mostrado proteger a las neuronas de este tipo de patologías. Finalmente, se ha relacionado al glutamato con un tipo de memoria, representado por el fenómeno conocido como potenciación a largo plazo, a nivel de la sinapsis. Todos estos factores han contribuido a estimular la investigación sobre los aminoácidos excitadores. El aspartato, otro aminoácido relacionado, podría tener también sus vías específicas, así como efectos particulares y separables de los del glutamato.

Memoria y aprendizaje

Aprendizaje es el proceso de adquirir nueva información, mientras que el término memoria se refiere a la persistencia de este aprendizaje o almacén de información en un estado que puede ser recuperado después de un tiempo. La memoria es la consecuencia habitual del aprendizaje y puede ser dividida en: memoria de corto y largo plazo.

Memoria de Corto Plazo (MCP). Llamada también memoria de trabajo, es la información que mantenemos en la conciencia, en un sistema de almacenamiento temporal; dura mientras la estamos utilizando (Baddeley, 1983 citado en Hall, 1989; Searleman, 1994). Una de las maneras de medir la memoria de corto plazo es la de examinar una lista de palabras las cuales tienden a recordarse en cualquier orden (Searleman, 1994).

Memoria de Largo Plazo (MLP):

Cuando la información ha dejado de ocupar nuestra atención y dejamos de tener conciencia de ella, pasa a formar parte de la memoria secundaria o memoria de consolidación entre 15 y 60 minutos (Corbella, 1994).

Depresión

En el diagnóstico de los fenómenos de depresión deberán identificarse los siguientes signos y síntomas los cuales no se recuperan, son permanentes y diarios.

Estado de ánimo disfórico presente la mayor parte de las horas y días, con intensa angustia, incapacidad al placer y pérdida generalizada de interés por las cosas. Asociado a tres de los síntomas:

- Alteración del sueño (hipersomnia o insomnio)
- Alteración del apetito (nulo o excesivo)
- Pérdida de energía
- Disminución del impulso sexual
- Inquietud
- Lentitud de pensamiento y acción (retraso psicomotor)
- Dificultad de concentración
- Indecisión
- Sentimientos de inutilidad
- Culpa, pensamientos pesimistas, muerte y suicidio
- Otros: estreñimiento, baja salivación, mayores síntomas en la mañana

Visión binocular y neurotransmisores

Tener visión binocular es básico para lograr un adecuado desarrollo de habilidades psicomotoras; éstas además son reguladas por un adecuado equilibrio de transmisores a nivel cerebral, por lo tanto si hay interrupción de la binocularidad, el déficit en la presencia de los neurotransmisores requeridos para la comunicación de la información sensorial visual deben estar alterados, con un desequilibrio que deberá ser compensado por neurotransmisores inhibitorios, esto a su vez deberá repercutir en las funciones motoras y, sensoriales relacionadas, el aprendizaje y la memoria que dependen de la información de esta función sensorial, la visión binocular.

Objetivos

1. Identificar cuáles son los cambios a nivel de corteza cerebral que se suscitan tras la interrupción de la visión binocular.
2. Identificar los neurotransmisores en corteza cerebral más alterados ante la interrupción de la binocularidad.
3. Correlacionar los cambios conductuales y la neuroadaptación posterior a la suspensión de la binocularidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Con el objetivo de determinar en ratas cuáles son los cambios en corteza cerebral mediante la medición de los neurotransmisores después de la interrupción de la binocularidad, se diseñó un estudio prospectivo, transversal, experimental y comparativo, del 25 septiembre del 2004 al 1 de marzo del 2005, en la división de investigación del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del ISSSTE. Todos los procedimientos y manejo de los animales de experimentación cumplieron con los requisitos internos del comité de ética y del reglamento para investigación en animales de experimentación de la Association for Research in Vision and Ophthalmology.

Se utilizaron 30 ratas de la cepa Wistar, 15 hembras y 15 machos, de 1 mes de edad y de 80 a 100 g de peso. Los animales fueron colocados en 5 grupos de 6, en jaulas de acrílico, con libre acceso al agua y al alimento (nutri-cubo, Purina, USA). Los animales se dividieron en cinco grupos experimentales:

Grupo 1: Ratas control (n=6)

Grupo 2: Ratas (n=6) con oclusión unilateral de 72 h

Grupo 3: Ratas (n=6) con oclusión unilateral de 1 semana

Grupo 4: Ratas (n=6) con oclusión unilateral de 2 semanas

Grupo 5: Ratas (n=6) con oclusión unilateral de 3 semanas

La interrupción de la binocularidad se llevó a cabo mediante tarsoorrafia unilateral del OD, con seda 6 ceros, bajo sedación con éter.

Previo a la oclusión y posterior a la misma, en todos los grupos se midieron la memoria de corto y largo plazo con una prueba de prevención pasiva. Los animales fueron sacrificados y se midieron catecolaminas por medio de HPLC. (Cromatografía Líquida de Alta Resolución).

Prevención pasiva (para memoria de corto y largo plazo)

Condicionamiento

Fue realizado en una cámara de condicionamiento con dos compartimientos del mismo tamaño (30 cm de largo, 30 cm de ancho y 30 cm de altura), un compartimiento considerado de castigo y otro considerado como de escape.

Los compartimientos estaban separados por una puerta tipo guillotina. En el compartimiento de escape, el piso consiste en barras de aluminio de 5 cm de diámetro separadas por una distancia de 1.5 cm. Una placa de acero inoxidable forma las paredes laterales y el piso del compartimiento de castigo. La puerta es conectada a una unidad de corriente constante (Grass, Mod PSIU6), y a un estimulador (Grass, Mod S48). Se aplicaron 50 pulsos cuadrados por segundo a una intensidad a 3 mA, con una duración de 5 mseg por pulso por 5 seg. El estimulador controla automáticamente la duración del estímulo, las latencias del escape son medidas manualmente.

Procedimiento

El animal se coloca en el compartimiento de seguridad durante 10 segundos, al cabo de los cuales se levanta la puerta deslizable y se mide el tiempo que tarda en pasar al otro compartimiento, cuando el sujeto tarda más de 600 segundos en pasar se da por terminado el experimento. Cuando la rata coloca sus cuatro patas en el compartimiento de castigo (latencia de adquisición), se cierra la puerta deslizable y se le administra un choque de 3 mA durante 5 seg. Se abre entonces la puerta deslizable y se mide el tiempo que el sujeto tarda en escapar al compartimiento de seguridad (latencia de escape). El animal permanece durante 30 seg en este compartimiento, regresándolo después a su caja de alojamiento.

A los 10 minutos (memoria de corto plazo) y a las 24 horas (memoria de largo plazo) se realiza la prueba de retención, para lo cual el animal es colocado en el compartimiento de seguridad por 10 seg. Se abre la puerta deslizable y se mide la latencia de entrada al compartimiento de casti-

go. En esta sesión el animal no recibe choque alguno. La sesión de prueba termina cuando el sujeto entra al compartimiento de castigo o permanece en el de seguridad por 600 seg (criterio de retención). 24 horas después se mide la memoria de largo plazo. Una vez que se determina la memoria de largo plazo se sacrifica el animal por decapitación. Inmediatamente se extrae el cerebro y se obtienen muestras de núcleo estriando, sustancia nigra (SN), cerebelo y corteza occipital para hacer determinación de noradrenalina, adrenalina, serotonina y dopamina utilizando una técnica de cromatografía de alta resolución (HPLC).

Técnica de Cromatografía de Alta Resolución (HPLC)

Los animales son sacrificados por decapitación y el cerebro es rápidamente removido y transferido dentro de solución salina fría, posteriormente son obtenidas las regiones del cerebro sobre hielo. Después de la disección se procede a pesar cada una de las regiones antes descritas, posteriormente las monoaminas son extraídas por homogenización en hielo en 500 μ L de ácido perclórico 0.4M por cada 0.1 g de tejido. Las muestras son centrifugadas a 12,000 rpm por 15 min en tubos Eppendorf y el sobrenadante es filtrado (millipore 0.2mm) y congelado para ser posteriormente inyectada la muestra en el sistema de HPLC.

Las catecolaminas se miden por cromatografía usando un sistema cromatografito Gilson equipado con dos bombas (305 y 306) y una fase reversa con columna Nucleosil C18 de Ion par (150x 4.60 mm ID. 100A, 5 μ m, Phenomenex). La columna eluyente es monitoreada con un detector electroquímico modelo LC-4 y un electrodo de carbono de Bioanalytical Systems LC4. El potencial del detector es +0.75V vs un electrodo de referencia Ag/AgCl. Una alícuota de 20 μ L de lo extraído se inyecta directamente dentro de la columna por medio de una válvula Reodyne y el sistema se recorre a una tasa de flujo de 1.0 ml/min. La fase móvil fue 32% acetonitrilo y 68% 10mM fosfato de potasio (NaH_2PO_4), 40 mM lauril sulfato de sodio y 0.5m M EDTA disuelta en agua desionizada y la mezcla fue filtrada con filtros Millipore 0.22 μ m. La cantidad expresada en ng/g de peso del tejido fue calculada por las áreas correspondientes a la curva usando la base de la curva estándar en 5 niveles de concentración.

Análisis estadístico

El nivel de significancia de los datos de HPLC fue probado empleando una prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Para el análisis de resultados de memoria de corto y largo plazo se aplicó un análisis de varianza de Kruskall Wallis (no paramétrica) para muestras independientes, que permite ver la homogeneidad de la población y analizar si existen diferencias entre grupos después de aplicado el tratamiento.

Para el estudio de las diferencias entre el grupo control y los grupos experimentales se utilizó la prueba de U Mann Whitney. Esta prueba se utiliza para muestras independientes, cuando la medición se refiere a estudios de conducta (Cuadros 1 y 2).

Cuadro 1. Memoria de largo plazo (MLP)

Kruskall Wallis			
Ctl			
72 h	F=(4.23)	13.85	p<0.01
1 sem	F=(4.23)	19.45	p<0.001
2 sem	F=(4.23)	28.61	p<0.001
3 sem	F=(4.23)	30.22	p<0.001
U Mann Whiney			
Ctl			
72 h	F=(1.13)	29.38	p<0.01
1 sem	F=(1.13)	53.27	p<0.001
2 sem	F=(1.13)	54.33	p<0.001
3 sem	F=(1.13)	69.42	p<0.0001

Cuadro 2. Memoria de corto (MCP)

Kruskall Wallis			
Ctl			
72 h	F=(4.23)	17.15	p<0.001
1 sem	F=(4.23)	41.65	p<0.001
2 sem	F=(4.23)	53.71	p<0.001
3 sem	F=(4.23)	57.14	p<0.001
U Mann Whiney			
Ctl			
72 h	F=(1.13)	27.13	p<0.001
1 sem	-	51.39	p<0.001
2 sem	-	53.17	p<0.001
3 sem	-	84.61	p<0.001

RESULTADOS

Resultados de noradrenalina (NA)

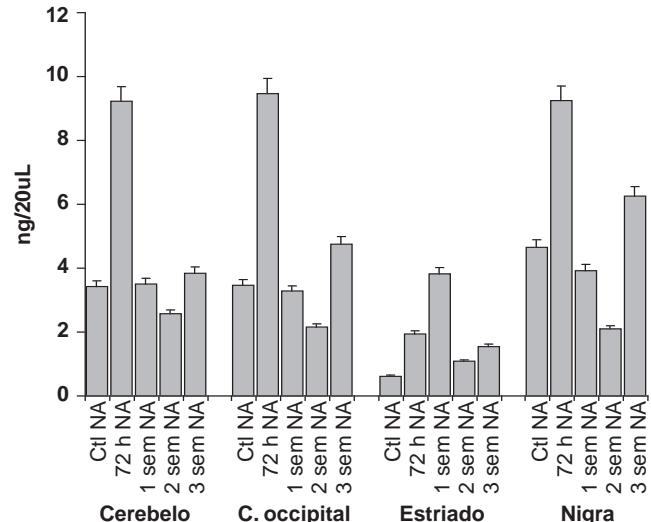
Niveles de NA en cerebro

En la gráfica 1 se observa un incremento en los niveles de NA en el cerebro a las 72 horas posteriores a la pérdida de la binocularidad. Una semana más tarde los niveles del neurotransmisor son similares a los del grupo control, manteniéndose así durante las dos semanas siguientes. El ANOVA muestra diferencias estadísticas significativas para el grupo de 72 horas, a diferencia de los otros grupos que no mostraron diferencias significativas (Cuadro 3).

Niveles de NA en sustancia nigra

Los resultados mostraron un promedio de 9.25ng/uL, DE 3.1de NA a las 72 h de la oclusión monocular y tres sema-

Gráfica 1. Niveles de noradrenalina (NA)



nas posteriores a la oclusión el grupo mostró un incremento de 6.25 ng/20uL DE 2.27 con respecto al control (p<0.001).

Niveles de NA en corteza occipital

Observamos un incremento en los niveles de noradrenalina en la corteza occipital a las 72 h de la pérdida de la binocularidad con un incremento en promedio de 9.74 ng/uL DE 2.53, con respecto al grupo control. ANOVA muestra diferencias estadísticas significativas y la prueba de Donet muestra p< 0.0001. En el grupo de las tres semanas observamos un incremento con un promedio 4.75 ng/uL DE 2.33 mostrando también diferencias significativas (p <0.01). El resto de los grupos no mostraron diferencias significativas.

Niveles de NA en estriado

La gráfica muestra un incremento significativo en los niveles de NA una semana después de la interrupción de la binocularidad. (p< 0.00001); el resto de los grupos no mostró diferencias.

Resultados de adrenalina

Niveles de adrenalina en cerebro

En la gráfica 2 podemos observar que el neurotransmisor en las ratas con interrupción de la binocularidad tuvo una disminución sobre todo a las 72 h y tercera semana donde ni siquiera fue detectable (p<0.0001).

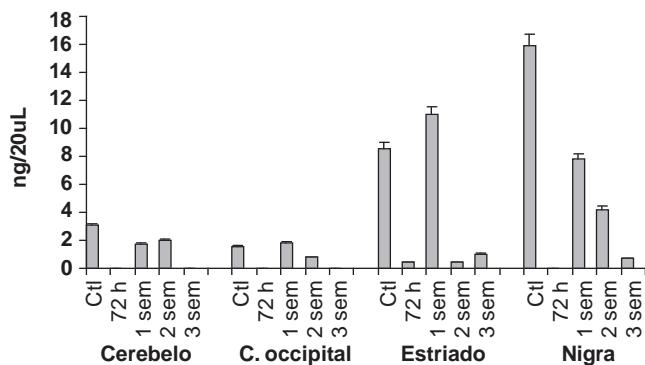
Cuadro 3. Resultados de noradrenalina (NA)

Estructuras cerebrales	Promedios									
	Control (ng/20uL)	DE	72 hrs (ng/20uL)	DE	1 sem (ng/20uL)	DE	2 sem (ng/20uL)	DE	3 sem (ng/20uL)	DE
Cerebelo	3.43	1.86	9.23	0.86	3.51	2.13	2.57	1.85	3.85	1.15
Occipital	3.47	1.05	9.47	2.53	3.28	1.55	2.15	1.41	4.75	2.35
Estriado	2.26	0.62	8.98	1.94	3.85	3.83	1.94	1.08	5.97	1.54
Nigra	4.65	2.65	9.25	3.18	3.93	4.26	2.10	1.72	6.25	2.27

Cuadro 4. Resultados de adrenalina (NA)

Estructuras cerebrales	Promedios									
	Control (ng/20uL)	DE	72 hrs (ng/20uL)	DE	1 sem (ng/20uL)	DE	2 sem (ng/20uL)	DE	3 sem (ng/20uL)	DE
Cerebelo	3.06	2.60	-	-	1.73	3.88	2.02	0.92	-	-
Occipital	3.49	1.55	-	-	2.70	1.83	2.76	0.82	-	-
Estriado	8.59	4.42	0.46	0.99	10.97	15.12	0.43	0.86	1.03	2.54
Nigra	15.93	11.13	-	-	7.81	9.21	4.21	4.39	0.71	1.74

Gráfica 2. Niveles de adrenalina



Niveles de adrenalina en c. occipital

En la gráfica 2 observamos que en ratas con 72 h de interrupción de la binocularidad hay una disminución del neurotransmisor al grado que no es detectable. A la semana el neurotransmisor aumenta a un promedio de 2.7 ng/uL, DE 1.83 mayor que el control ($p<0.1$) a las 2 semanas disminuye a un promedio de 2.76 ng/20uL, DE 0.82 y para la tercera semana vuelve a disminuir a niveles nulos ($p<0.0001$).

Niveles de adrenalina en núcleo estriado

En la gráfica 2 se observan los niveles de adrenalina en el *corpus striatum* con un promedio de 8.59 ng/20uL DE 4.42 y disminución del neurotransmisor en las ratas a las 72 h ($p<0.0001$). A la primera semana los niveles de adrenalina subieron a un promedio de 10.97 ng/20uL DE 4.42, con respecto al control para de nuevo disminuir en la semana 2 y 3 ($p<0.0001$).

Niveles de adrenalina en la sustancia nigra

El grupo control llama la atención con los niveles más altos del neurotransmisor de todas las estructuras analizadas con promedio de 15.93 ng/20uL DE 11.13, en la sustancia nigra

observamos que a las 72 h el nivel de neurotransmisor presenta una disminución hasta niveles no detectables. A la semana aumenta a un promedio de 7.81 ng/20uL DE para descender de nuevo en las semanas 2, 3 con una diferencia estadísticamente importante (Cuadro 4).

Resultados de serotonina

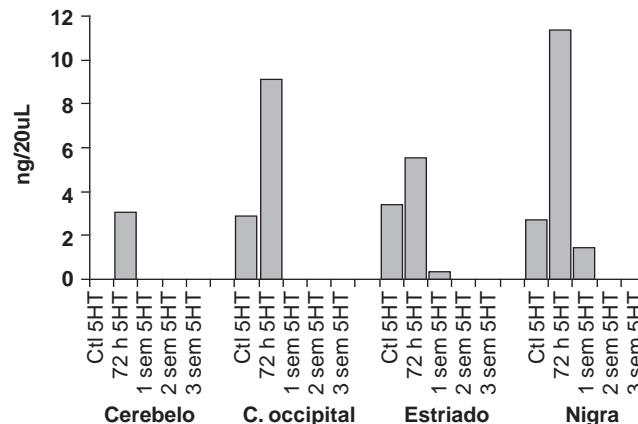
Niveles de serotonina (5 HT) en cerebro

La gráfica 3 muestra un aumento del neurotransmisor a un promedio de 3.05 ng/20uL DE 1.95, a las 72 h respecto al nivel del control que no fue detectable, permaneciendo con una disminución muy importante con valores subumbral el resto del experimento.

Niveles de serotonina en corteza occipital

Se observa en la gráfica 3 un aumento estadísticamente importante según el ANOVA ($p<0.0001$) de serotonina en ratas sacrificadas a las 72 h, con un valor promedio de 9.13 ng /20uL DE 9.50 disminuyendo a niveles no detectables el resto del experimento (Cuadro 5).

Gráfica 3. Niveles de serotonina (5 HT)



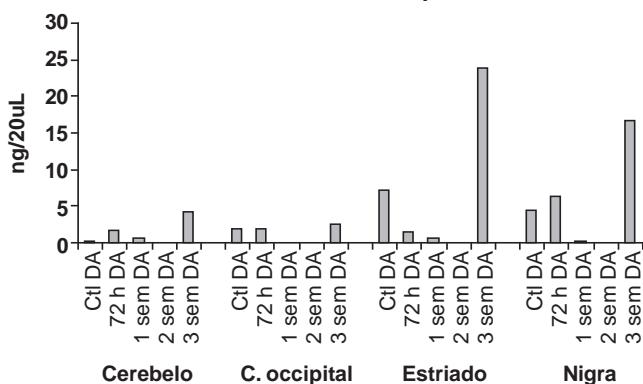
Cuadro 5. Resultados de serotonina (5HT)

Estructuras cerebrales	Promedios									
	Control (ng/20uL)	DE	72 hrs (ng/20uL)	DE	1 sem (ng/20uL)	DE	2 sem (ng/20uL)	DE	3 sem (ng/20uL)	DE
Cerebelo	-	-	3.05	1.95	-	-	-	-	-	-
Occipital	2.89	4.48	9.13	9.50	-	-	-	-	-	-
Estriado	3.42	4.48	14.44	12.50	0.33	0.74	-	-	-	-
Nigra	2.71	4.25	11.34	11.12	1.42	2.37	-	-	-	-

Cuadro 6. Resultados de dopamina

Estructuras cerebrales	Promedios									
	Control (ng/20uL)		72 hrs (ng/20uL)		1 sem (ng/20uL)		2 sem (ng/20uL)		3 sem (ng/20uL)	
	DE		DE		DE		DE		DE	
Cerebelo	0.15	0.37	1.77	1.70	0.72	1.61	-	-	4.12	2.30
Occipital	1.80	2.46	1.89	2.11	-	-	-	-	2.58	1.40
Estriado	7.15	10.77	1.43	1.31	0.59	1.00	-	-	23.93	3.10
Nigra	4.40	8.35	6.25	7.47	0.12	0.47	-	-	16.60	4.78

Gráfica 4. Niveles de dopamina



Los niveles de serotonina en el *c. estriatum* siguieron mostrando esta tendencia de aumento del neurotransmisor a las 72 h en un 62% con respecto al control, en las semanas 1, 2 y 3, disminuyeron de forma importante llegando al nivel subumbral.

Los niveles de serotonina en la sustancia *nigra* los cuales están representados en la gráfica 3 muestran un aumento muy importante del neurotransmisor en las ratas a las 72 h ($p<0.000001$), a la semana disminuye de forma dramática hasta 52% respecto del grupo control, y en las semanas 2 y 3 permaneció tan disminuido que resultó indetectable.

Resultados de dopamina

Niveles de dopamina en cerebelo

La gráfica 4 muestra un aumento a las 72 h de 1.77 ng/20uL DE 1.70, con respecto al control, con ANOVA estadísticamente importante. En la segunda semana disminuyen a niveles no detectables, y a la tercera semana hay un aumento de 4.12 ng/20uL DE 2.30, con ANOVA estadísticamente importante ($p<0.0001$).

Niveles de dopamina en corteza occipital

Las ratas con pérdida de la binocularidad de 72 h no mostraron diferencia estadísticamente importante respecto al control. Los niveles de dopamina en las ratas sacrificadas en la semana 2 disminuyeron hasta niveles no detectables, y a la tercera semana se mantuvieron a un promedio de 2.58 ng/20uL DE 2.30 no mostrando diferencia estadística.

Niveles de dopamina en estriado

A nivel del estriado el grupo control mostró un promedio de 7.15 ng/20uL con una DE de 10.77. A las 72 h, primera y

segunda semana no mostró una diferencia importante. A la tercera semana mostró aumento de 23.93 ng/20uL con DE 3.10, con ANOVA estadísticamente importante $p<0.0001$ (Cuadro 6).

Niveles de dopamina en sustancia nigra

Los niveles de dopamina en sustancia *nigra* mostraron, en el grupo control, un promedio de 4.40 ng/20uL con DE de 8.35 en las ratas sacrificadas a las 72 h. En la segunda semana disminuye, llegando a valores no detectables. Las ratas sacrificadas a la tercera semana tuvieron un aumento en el neurotransmisor en promedio de 16.60 ng/20uL DE 4.78 con un ANOVA estadísticamente importante $p<0.001$.

DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados muestran que los niveles de neurotransmisores y la memoria se alteran en respuesta a los cambios en la binocularidad.

Estos resultados son consistentes con los estudios de Marshall (2000) en los que se ha reportado que ante situaciones de estrés se presentan alteraciones de los neurotransmisores.

Los neurotransmisores son sustancias químicas presentes en la terminación nerviosa y liberadas por un potencial de acción cuando se unen al receptor, participan en el control de los estados de sueño y vigilia, ánimo, emociones, algunos tipos de depresión, conducta y ciertos estados alucináticos inducidos por drogas.

Estos cambios han sido demostrados a través de la investigación en modelos animales y en humanos. En dichos estudios se ha determinado que existen períodos críticos en el desarrollo de funciones neurológicas como la visión o la sustitución sensorial, ejemplo de esto es la rehabilitación en gatos ambliopes (1, 7, 9).

Existe una gran cantidad de enfermedades asociadas al sistema nervioso central en las que están implícitas las funciones de ciertos neurotransmisores tales como la adrenalina y la noradrenalina. Así, se ha sugerido que en algunos trastornos oculares agudos, existe una alteración en el metabolismo y función de estas catecolaminas, por lo que consideramos que los cambios en los niveles de catecolaminas observados a nivel de cerebelo, *corpus striatum*, substancia *nigra* y corteza pueden ser consecuencia de los cambios inducidos en el campo visual (1, 2, 7, 9, 18, 19).

Proponemos que tal respuesta forma parte fundamental de un proceso postraumático encaminado a recuperar la fun-

ción estableciéndose como mecanismos de compensación que siguen a una lesión neurológica, mediante la modificación funcional y reorganización estructural del sistema nervioso a través de la liberación o inhibición de neurotransmisores.

Nuestros resultados muestran cambios importantes a nivel de neurotransmisores, en los niveles de noradrenalina se demostraron cambios estadísticamente importantes en todas las estructuras analizadas a las 72 h. Esto sugiere un estado de estrés generalizado secundario a la interrupción abrupta de la binocularidad, mientras que los niveles de adrenalina estuvieron disminuidos a las 72 h y aumentaron de manera importante en ganglios basales sobre todo a la primera semana, con niveles estadísticamente importantes.

Los niveles de serotonina, sin embargo, se comportaron diferente, mostrando una disminución estadísticamente importante sobre todo después de la primera semana del experimento, permaneciendo indetectables el resto del tiempo; esta disminución en los niveles de serotonina, ha sido demostrada en estados depresivos. La alteración bioquímica representada por los niveles de serotonina ante los fenómenos de depresión ocurridos en los animales por estrés relacionado a la falla de binocularidad, se diferencia de los fenómenos de duelo ante la pérdida de un órgano por el sostenimiento del defecto y no recuperación de la rata a más largo plazo y falla de adaptación motora y sensorial ulterior, de manera que el fenómeno de depresión persiste. Por otro lado los fenómenos de duelo pueden transformarse también en depresión.

De ahí la importancia de haber detectado este cambio en este experimento, ya que podríamos suponer que los pacientes con interrupción de la binocularidad pueden tener síntomas depresivos no detectados o atribuidos a otras entidades.

Respecto a las funciones corticales las evidencias en modelos animales demuestran que el aprendizaje y la memoria, requieren de la participación de estructuras específicas como son la corteza cerebral, hipocampo, núcleo caudado, ganglios basales, amígdala y cerebro. Así mismo es conocida la participación de neurotransmisores como los sistemas colinérgicos, dopaminérgicos y GABAérgicos contribuyendo en los procesos de adquisición, transferencia, consolidación y almacenamiento de la memoria (Vannuchi, 1995).

Los resultados muestran que los animales con pérdida de la binocularidad presentaron una progresiva reducción en las latencias de retención para la MCP y MLP a partir de la primera semana de observación, misma que se prolongó hasta el final del experimento (semana 3). Algunos autores han relacionado ciertos procesos de deterioro en la memoria con el estado de estrés y es muy probable que la pérdida abrupta de la binocularidad lo produzca y que tal proceso *per sé* conduzca a un estado de alerta que incremente la liberación de ciertos neurotransmisores como la adrenalina, NA y DA los cuales actuarían como mecanismos de defensa y neuroprotección, así como de los sistemas neuroquímicos que participan en la consolidación del aprendizaje y de la memoria

(Ames, 1993; Harman, 1986; Joseph, 1992; 1995; Olanow, 1993; Poot, 1991; Stadman, 1992).

En los procesos crónicos de estrés se ha reportado una disminución en la arborización dendrítica y tamaño neuronal en el hipocampo, corteza entorrinal, amígdala y cuerpos mamilares. También se sabe que las hormonas sexuales, la hormona del crecimiento y ACTH juegan un papel importante en la modulación de los procesos mnémicos (Schneider, 1995).

Los niveles de dopamina también permanecieron bajos en todo el experimento y en ganglios basales se detecta aumento de los niveles de este neurotransmisor lo que podría representar una neuroadaptación. Estas alteraciones importantes a nivel del sistema dopamina ocurren ya que las vías dopaminérgicas parten de sustancia *nigra* y estimulan centros y corteza. Estos niveles pudieron observarse altos en control, y se perdieron a las 72 h continuando bajos por tres semanas, lo que se correlacionó con un déficit de motivación y aprendizaje especialmente en la primera y segunda semanas (niveles bajos de dopamina en sustancia nigra y estriado)

CONCLUSIONES

La falla de la binocularidad provoca un déficit en el sistema sensoriomotor cortical secundario a la transmisión de una información inadecuada, esto es evidente con los defectos conductuales y de aprendizaje y memoria sucedidos en los animales del presente estudio y correspondiente a los niveles de neurotransmisores reportados a diferentes niveles del Sistema Nervioso Central. Los fenómenos de depresión inducidos ante la misma producen fenómenos de depresión evidenciados también por los niveles de serotonina que provocan un círculo malo y contraproducente para la neuroadaptación positiva. Estos fenómenos de depresión deben sospecharse para identificar precozmente síntomas en pacientes, especialmente niños, con falla de binocularidad, para poder integrar un diagnóstico temprano de los estados sensoriales, anímicos, visuales y por ende que puedan repercutir en las capacidades motoras y de aprendizaje durante el crecimiento para ofrecer un tratamiento adecuado y una rehabilitación precisa y enfocada a las áreas que requieren una atención especial.

REFERENCIAS

1. Aguilar RF. Plasticidad Cerebral. Rev Med IMSS 2003; 41(2):133-142.
2. Alañón FFJ, Cárdenas M y cols. Ambliopia y Estrabismos. Cap XV. p-312.
3. American Academy of Ophthalmology: Basic and Clinical Science Course: Pediatric Ophthalmology and Strabismus, sect 6. San Francisco, AAO, 1996.
4. Espinoza CS. Alteraciones conductuales por deprivación visuo-kinestésica en ratas. Arch. Biol Med 2002; 42(1):120-137.

5. Espinoza CS. Single unit. studies in the visual cortex of rodents, Arch Biol Med 1983;16:305-15.
6. Espinoza CS, Thomas H. Retinotopic organization of striate and extrastrate visual cortex in the hooded rat. Brain Research 1983; 272:137-144.
7. Galaburda AM. Introduction to special issue: Developmental plasticity and recovery of function. Neuropsychologia 1990; 28:515-516.
8. Hubel DH, Wiesel TN. Binocular interaction in striate cortex of kittens reared with artificial squint. J Neurophysiol 1965; 26:994-1059.
9. Hubel DH, Wiesel TN. The period of susceptibility to the physiological effects of the unilateral eye closure in kittens; J Physiol 1970; 206:419-436.
10. Kandel ER, Jesell TM. Early experience and the fine tuning of synaptic connections. Principles of neural science. Prentice Hall International, 4ta. Ed, 945-958.
11. Kolb B, Whishaw IQ. Plasticity in the neocortex: Mechanisms underlying recovery from early brain damage. Prog Neuropathol 1989; 32:235-276.
12. Marshall M. Binocular vision, the light stimulus and the responses. En: Duane: Ophthalmology Clinical 2000; Vol 1. Cap 5. CD. ROM
13. Medina S, Márquez BFJ, Puertas BD. Protocolo de exploración en ambliopía. En: Acta Estrabológica 1999; 28:59-63.
14. Monville C. Brain plasticity, a star has emerged. Neuroreport 2001; 12 (nov):A89.
15. Prieto DJ, Sensorialidad. En: Prieto-Díaz, J. Estrabismo. Barcelona, JIMS 2ª ed. 1986; 3-22.
16. Rozados R. Los neurotransmisores en general. Jun 2002. RedNodo.com
17. Steven E. Rubin MD. Ambliopía diagnóstico y tratamiento. Clínicas Pediátricas de Norteamérica, 1993; 4:793-803.
18. Weisel TN, Hubel DH. Comparison of the effects of unilateral and bilateral eye close on cortical unit responses in kittens. J Neurophysiol 1965; 28: 029-1092.
19. Woods CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: Increasing the gain in pain. Science 2000; 288:1765-1768.

ng/20uL	ng/uL	20 ng/uL
ng/20uL	ng/uL	20 ng/uL