



Evaluación cualitativa del estado de activación de la microglia a largo plazo en el cerebro de ratones enucleados al nacer

Long-term qualitative evaluation of the activation state of microglial cells in the brain of neonatally enucleated mice

Denisse Escalante-Martínez¹, Anahí Chavarría²,
Gabriel Gutiérrez-Ospina³, Tania Romo-González¹

Recibido: 15/06/2009 - Aceptado: 20/08/2009

RESUMEN

Introducción. Elementos citológicos del sistema inmunológico y sus productos secretorios promueven y/o facilitan la reorganización neural. En roedores cegados al nacimiento el cerebro es sometido a una gran reorganización, no obstante, nada se sabe aún sobre la participación del sistema inmunológico en estos procesos. **OBJETIVOS, MATERIAL y MÉTODOS.** En el presente trabajo evaluamos el estado de activación de las células microgliales en el cerebro de ratones adultos control cegados al nacer, mediante técnicas de inmunoperoxidasa. **Resultados:** i) La microglia cortical e hipocampal mostró, cualitativamente, una reducción en las ramificaciones positivas para el antígeno F4/80 en los ratones adultos cegados al nacimiento. ii) La microglia y los macrófagos perivasculares ubicados en diversas regiones del sistema nervioso de los ratones cegados fueron positivos para la inmunotinción del MHCII. **Conclusiones.** Los datos descritos apoyan la idea de que la microglia en los ratones cegados mantiene un estado de pseudo-activación a largo plazo en algunas regiones del sistema nervioso, condición que pudiese facilitar y/o promover constantes eventos de reorganización neural en ellas.

Palabras clave: microglia, plasticidad neuronal, ceguera.

ABSTRACT

Introduction. Cellular elements and secretory products of the immunological system promote and/or facilitate neural reorganization. Although a large-scale reorganization takes place in the brain of neonatally blinded rodents, it is yet unclear whether immunological factors modulate such response.

OBJETIVES, MATERIAL and METHODS. The present work evaluated the state of activation of microglial cells and their distribution of pro- and anti-inflammatory cytokines in the brain of adult control rats and of those blinded at birth by means of immuno-peroxidase techniques. **Results:** (i) Cortical and hippocampal microglia displayed, qualitatively, a reduced number of cellular processes immunoreactive for F4/80 in blinded rats. (ii) Microglial cells and perivascular macrophages were positive for MHCII at various locations of blinded rats' brains. **Conclusions.** The data presented support that microglial cells maintain a long-term pseudo-activated state in some areas of the brain of blinded rats, such condition could facilitates and/or promotes constant reorganization events in these areas.

Keywords: Microglia, neuronal plasticity, blindness

Correspondencia:

Tania Romo-González.
Dirección Postal: 2a Schubert No. 4 Indeco Ánimas, Xalapa, Ver., México. C.P. 91190.
E-mail: romisnaider@yahoo.com.mx
Teléfono: +52 (228) 8418900 ext. 13420.
Fax: +52 (228) 8418911 ext. 15911.

¹ Grupo de Biología y Salud Integral, Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

² Laboratorio de Neuroinmunología, Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.

³ Laboratorio de Biología Integrativa, Departamento de Biología Celular, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México 04510.

INTRODUCCIÓN

La vista constituye uno de los sistemas sensoriales más importantes en los mamíferos. En apoyo a esta afirmación se sabe, por un lado, que las áreas responsables de procesar información visual ocupan cerca de 30% del total de la superficie de la corteza cerebral y, por el otro, que alrededor de cuarenta subregiones corticales se destinan al procesamiento de los distintos atributos físicos de los escenarios visuales¹. Es quizás por esto que la pérdida de la visión constituye un evento altamente incapacitante.

No obstante las restricciones funcionales asociadas con la pérdida de la visión, los sujetos ciegos desarrollan estrategias conductuales que les permiten adaptarse y/o sobrellevar la interacción con su entorno², probablemente como resultado de la reorganización del cerebro en los sujetos ciegos.

La mayor parte de los estudios realizados sobre los mecanismos de reorganización del sistema nervioso se han orientado a la identificación de los diferentes tipos de factores locales neurales y sus posibles interacciones en el desarrollo del proceso de reorganización. Sin embargo, datos publicados apoyan la posibilidad de que la interacción de los factores neurales con aquellos endocrinos e inmunológicos pudieran determinar la magnitud de las respuestas de reorganización del sistema nervioso central y periférico por su estrecho vínculo estructural y funcional³⁻⁸. Por ejemplo, los elementos celulares inmunológicos y la liberación de citocinas por parte de éstos permiten esculpir y mantener la morfo-fisiología del sistema nervioso durante la ontogenia y en la edad adulta⁹⁻²⁰.

Uno de los modelos de plasticidad más utilizados en el ámbito neurobiológico constituye la privación temprana de los órganos de los sentidos, en particular de los ojos. La pérdida de estos órganos conduce a cambios de gran escala en la morfo-fisiología del sistema nervioso central (SNC) y periférico. Así, las zonas destinadas al procesamiento de información visual se transforman en áreas bimodales capaces de procesar información auditiva y somestésica a lo largo de todo el sistema nervioso²¹⁻²⁷. A este cambio funcional le acompaña uno morfológico caracterizado por la expansión de las áreas destinadas al procesamiento de información proveniente de los órganos sensoriales intactos²⁸⁻³¹. La participación de elementos inmunológicos en esta respuesta no ha sido evaluada a la fecha. No obstante, el que se observe activación de la microglia en áreas o núcleos que constituyen relevos sinápticos centrales de manera consecutiva a la sección de los nervios periféricos sensoriales^{10,11,13}, abre la posibilidad de que el sistema inmunológico juegue un papel central en la reorganización a gran escala en el sistema nervioso central.

Aunque existe evidencia acumulada sobre aspectos clínicos, fenomenológicos y psicofísicos relacionados con la reorganización cerebral en la ceguera^{2,32-34}, el conocimiento

sobre los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a dicha reorganización es en extremo limitado. Por lo que entender los mecanismos inductores y moduladores de la reorganización cerebral en organismos ciegos se vuelve fundamental para que en un futuro próximo se puedan diseñar terapias farmacológicas, instrumentales y fisioterapéuticas que permitan tener un mayor éxito en la restauración de la función visual.

Con el objeto de iniciar el estudio de las interacciones neuro-inmunológicas que pudiesen modular los procesos de reorganización cerebral asociados con la ceguera, en el presente trabajo evaluamos el estado de activación de la microglia (células que fungen como fagocitos y como presentadoras de抗ígenos en el sistema nervioso) en diversas regiones del cerebro de ratones cegados al nacer. Estudios previos sugieren que se requiere de la pseudo-activación o activación de la microglia para llevar a cabo procesos agudos o crónicos de reorganización neural, ya que la microglia o semi-activada libera citocinas que promueven el crecimiento neuronal^{35,36}.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Los experimentos fueron realizados en ratones machos CD1 de 60 días de vida postnatal. El número de crías por camada fue ajustado a ocho animales, la mitad de los cuales fue asignada al grupo control y la otra, al grupo de ratones ciegos. Todos los animales fueron mantenidos en un ciclo luz: oscuridad 14:10, con agua y comida *ad libitum*, y se mantuvieron cohabitando en grupos de ocho hasta su sacrificio. Los procedimientos quirúrgicos y de cuidado de los animales siguieron la normatividad dictada por los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos.

Enucleación

La remoción quirúrgica de los ojos se realizó siguiendo los lineamientos de los protocolos descritos previamente^{28,37}. Brevemente, los animales recién nacidos fueron anestesiados por hipotermia. Se realizó una incisión fina sobre la fisura palpebral y se removió totalmente el tejido ocular. Después de extraídos ambos ojos, los animales se colocaron en una cobija termo-regulada a 36°C, se controló el sangrado y se regresaron con su madre después de recuperar su temperatura, color y movimiento. Los animales controles fueron tratados de la misma manera aunque se obvió la cirugía.

Inmunocitoquímica

Los ratones adultos controles y ciegos al nacer fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico (45mg/Kg de peso corporal). Posteriormente, se perfundieron por vía intracardiaca con una solución salina seguida de una solución

amortiguada de paraformaldehído al 4%. Los cerebros se extrajeron y se postfijaron dos horas en el mismo fijador, a temperatura ambiente. Los cerebros se transfirieron a una solución amortiguada de sacarosa al 20% hasta su decantación; posteriormente fueron congelados en 2 metil-butano pre-enfriado con hielo seco. Una vez congelados, los cerebros se almacenaron en un ultracongelador (-80°C) hasta su uso. El día del experimento, los cerebros se cortaron coronalmente (25 μ m) y las secciones obtenidas se colectaron en pozos llenos de amortiguador de fosfatos. Los cortes fueron incubados con una solución de peróxido de hidrógeno al 3% en amortiguador de fosfatos por 10 minutos para inactivar las peroxidases endógenas. Después de tres lavados con amortiguador de fosfatos, los cortes se incubaron con una solución de citratos (Diagnocell) durante una hora a 70° C para desenmascarar antígenos. Los cortes se lavaron nuevamente y se incubaron con los anticuerpos primarios monoclonales obtenidos en rata y dirigidos contra F4/80 (1:500) y MHCII (1:250) de ratón, diluidos en amortiguador de fosfatos adicionado con suero de caballo (5%) o albúmina bovina libre de proteasas (5%) y tritón X-100 (0.5%) (PBt). Las secciones fueron incubadas con los anticuerpos primarios toda la noche a temperatura ambiente. Finalizada esta etapa, las secciones se lavaron nuevamente y se incubaron con los anticuerpos secundarios correspondientes acoplados a biotina diluidos en PBt o amortiguador de fosfatos (1:500) por dos horas a temperatura ambiente. Posteriormente, las secciones se lavaron e incubaron en una solución de avidina-peroxidasa a la concentración recomendada por el proveedor (Vector Laboratories), durante una hora y media a temperatura ambiente. Después de una etapa final de lavado, la actividad de peroxidasa fue revelada usando 3,3'-diaminobenzidina (0.05%) como cromógeno y peróxido de hidrógeno (0.01%) como sustrato durante 2.5-5 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, las secciones fueron lavadas, colocadas en portaobjetos gelatinizados y dejadas secar a temperatura ambiente. Algunas de las secciones fueron contrateñidas con violeta de cresilo. Después de montarse con Cytoseal, las preparaciones fueron observadas y fotografiadas utilizando un microscopio Nikon Optiphot u Olympus CX31.

RESULTADOS

Distribución de la microglia

La distribución de la microglia marcada para F4/80 en los cerebros de ambos grupos de animales fue heterogénea y equivalente a lo reportado previamente por Lawson *et al*³⁸. Nuestros resultados mostraron una mayor densidad celular en el hipocampo, el telencéfalo olfatorio, los ganglios basales y la sustancia nigra; la menor se observó en los tractos fibrosos, el

cerebelo y en el tallo cerebral (Fig. 1). Una intensidad intermedia fue observada en algunas regiones de la corteza cerebral, el tálamo y el hipotálamo (Fig. 1). Adicionalmente, nuestros resultados muestran que en la corteza somatosensorial existen diferencias en la densidad de microglia en sus diferentes capas; es mayor en las capas I y II, media en las capas III, V y VI, y baja la densidad en la capa IV (Fig. 2).

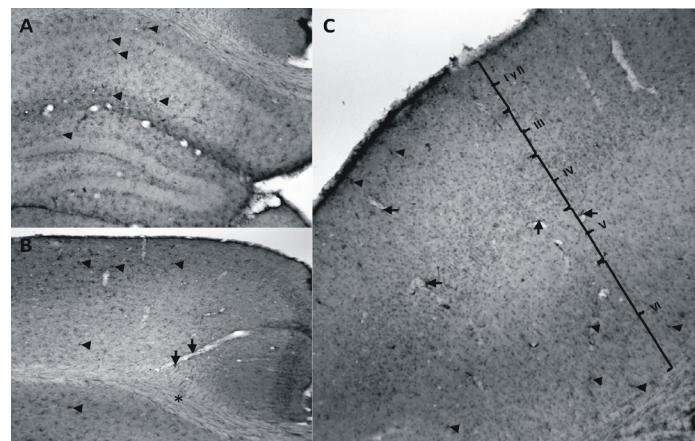


Figura 1. Fotomicrografías que ilustran zonas cerebrales inmunoteñidas para F4/80 de ratones cegados al nacer (A y B) y ratones controles (C), en los que se muestran las diferencias en la densidad de la microglia. A) Hipocampo. B) Corteza cingulada y el cuerpo caloso(*). C) Corteza somatosensorial primaria. Las flechas señalan a macrófagos perivasculares y las cabezas de flecha a células microgliales.

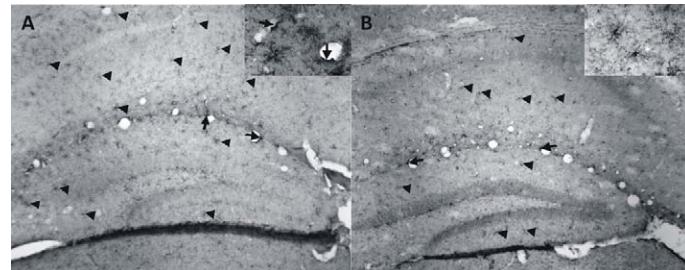


Figura 2. Fotomicrografías que ilustran la diferencias en expresión de F4/80 y la morfología microglial. A) Hipocampo de un ratón control. B) Hipocampo de un ratón cegado. Las flechas señalan a macrófagos perivasculares y las cabezas de flecha a células microgliales. Las células microgliales se observan con mayor detalle en los recuadros.

Expresión de F4/80

Qualitativamente, la regionalización de la expresión de la glicoproteína F4/80 fue similar en ambos grupos de animales. Cabe destacar que la morfología del tipo celular observado en ambos grupos de animales corresponde a microglia en reposo. Sin embargo, en algunas zonas del cerebro de los ratones controles, particularmente en el hipocampo, se observó una mayor intensidad de marca en comparación con los ratones cegados (Fig. 2). La morfología microglial en los ratones controles fue más ramificada con respecto a los cegados (recuadros en la Fig. 2). Esto podría explicar las diferencias observadas entre ambos grupos de ratones.

Expresión de MHCII

Los ratones cegados presentaron células microgliales inmunoreactivas para MHCII predominantemente en el parénquima hipocampal y en el septo (Fig. 3). No se observó microglia inmunoreactiva en el tálamo. Adicionalmente, los ratones cegados también mostraron consistentemente macrófagos perivasculares inmunoreactivos para MHCII (recuadros en la Fig. 3), mientras que en los cerebros de los ratones controles no se observó.

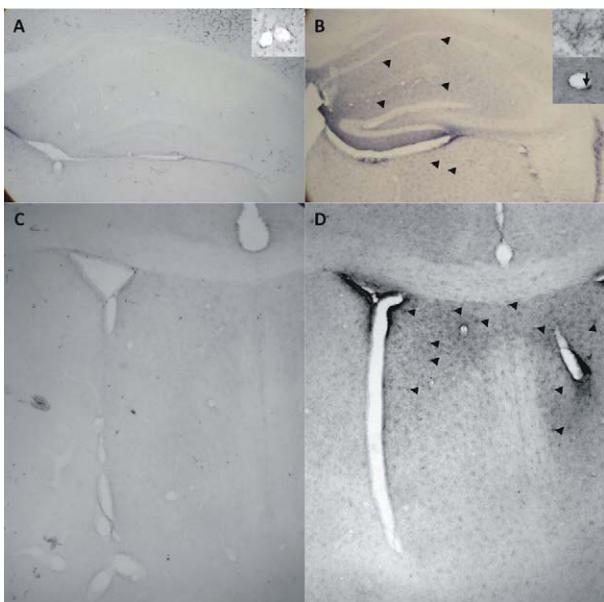


Figura 3. Fotomicrografías que ilustran la expresión de MHCII en el hipocampo (A y B) y septo (C y D) de ratones controles (A y C) y cegados (B y D). En el recuadro se ilustran macrófagos perivasculares sin expresión (A; flecha) y con expresión (B; flecha) de MHCII, asimismo se muestra una microglia expresando MHCII (recuadro superior de B).

DISCUSIÓN

En los últimos años, avances en la neuroinmunología han mostrado la conexión e interdependencia que existe entre el sistema nervioso y el sistema inmunológico³⁻⁸. Un claro ejemplo de esto es la participación de la microglia durante la reestructuración neuronal después de lesiones axonales motoras periféricas. En este modelo, el número de células microgliales en la médula espinal incrementa drásticamente en la fase aguda del proceso y las neuronas dañadas son rápidamente rodeadas por microglia activada³⁹⁻⁴¹. En este ambiente inflamatorio, la microglia pasa rápidamente de su estado de reposo con morfología ramificada a un fenotipo ameboide con prolongaciones escasas y es capaz de fagocitar los restos sinápticos^{42,43}. Adicionalmente, se ha visto que en condiciones fisiológicas la microglia también participa en la sinaptogénesis y la apoptosis¹⁹. No obstante estas evidencias, nuestros resultados no mostraron diferencias en la distribución

ni aparentemente en el número de las células de microglia entre los ratones cegados y los controles; es probable que esto sea secundario a que el evento inflamatorio fue en los primeros días postnatales cuando se realizó la remoción quirúrgica de los ojos y nuestras observaciones son posteriores en los ratones adultos. Por otro lado, la morfología de la microglia observada en ambos grupos fue de una microglia en reposo, sin embargo, los ratones controles mostraron más ramificaciones con respecto a los cegados en el hipocampo, lo cual se vio reflejado en la densidad de expresión de F4/80. Una observación adicional en los ratones cegados que contrastó con el estado de reposo fue la expresión de MHCII en la microglia hipocampal y septal. Es posible que estas dos observaciones en los ratones cegados sugiera un estado intermedio de activación de la microglia. En apoyo a esta posibilidad, estudios recientes han sugerido que un estado de semi-activación de la microglia se caracteriza por la presencia de la morfología ramificada y la expresión de MHCII¹⁷. Adicionalmente, se ha documentado que el estado de semi-activación microglial pudiera promover el mantenimiento de la circuitería neuronal formada después de un fenómeno de reorganización neuronal a través de la liberación de neurotrofinas como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF de sus siglas en inglés)^{17,19,44}.

La mayoría de los modelos usados para el estudio de la plasticidad neuronal que ha evaluado componentes del sistema inmunológico se ha centrado en los períodos iniciales del modelo y en la participación de la microglia activada en un ambiente inflamatorio³⁹⁻⁴¹. En este trabajo evaluamos el fenómeno a los 60 días después de su inicio, es decir, los efectos a largo plazo. En nuestras series experimentales observamos un aumento en la expresión de MHCII sobre una microglia ramificada (en reposo) en los animales de 60 días cegados al nacer, lo cual puede deberse a modificaciones en el ambiente cerebral que permiten un estado semi-activado de la microglia. Este estado de semi-activación microglial podría ser favorecido por factores de origen neural⁴⁵⁻⁴⁷. Previamente se ha documentado un incremento de GABA en los roedores cegados al nacer después de los 60 días de edad⁴⁸. Por otro lado, se ha reportado la presencia de receptores GABA_A en la microglia y un aumento en el número de éstos en su estado activado⁴⁷. La presencia crónica de GABA y su acción sobre los receptores microgliales podría atenuar la liberación de citocinas pro-inflamatorias como IL-6 e IL-12, sin influir en la liberación de TNF- α y óxido nítrico, lo que conduciría a un estado de semi-activación⁴⁷. Adicionalmente, factores como las neurotrofinas podrían también favorecer un estado semi-activado de la microglia a través de la inhibición de la expresión de MHCII y de esta manera no permitir la activación completa de la microglia⁴⁹. De esta forma, el equilibrio entre los factores inhibidores y los estimuladores de la activación de la microglia

podría explicar el estado de semi-activación de la microglia hipocampal y septal en el cerebro de ratones de 60 días de edad, cegados al nacer (Fig. 4).

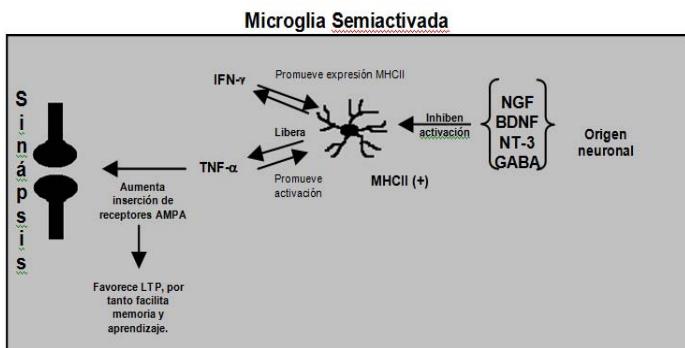


Figura 4. Esquema que ilustra las posibles interacciones entre los factores inmunológicos y neurales que pudieran llevar a la semi-activación de la microglia en el hipocampo y septo de los ratones cegados al nacer. Abreviaturas: Complejo Mayor de Histocompatibilidad II (MHCII), Factor de Crecimiento Neuronal (NGF), Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (BDNF), Factor Neurotrófico 3 (NT-3), ácido gamma-aminobutírico (GABA), potenciación a largo plazo (LTP), α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propionato (AMPA), Interferón gamma (IFN- γ), Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α).

El estado de semi-activación a largo plazo de la microglia en el hipocampo y el septo pudiera ser relevante en el rápido aprendizaje y ejecución óptima en las tareas de reconocimiento espacial auditivo y táctil¹⁷. Esto pudiera ser secundario a la síntesis y secreción de factores quimiotácticos para linfocitos T, los cuales mejoran los procesos de aprendizaje espacial y memoria¹⁷. Finalmente, no podemos descartar que el estado semi-activado de la microglia contribuya al mantenimiento de un ambiente neural modificado en factores neurotróficos, tal como es BDNF¹⁹. Dicho factor neurotrófico se ha propuesto como regulador clave y mediador de las modificaciones sinápticas de largo plazo relacionados con el aprendizaje y la memoria en el cerebro de mamíferos adultos⁵⁰.

Así, con la realización de este estudio preliminar, contribuimos a la concepción cada vez más aceptada de que el sistema nervioso e inmunológico actúan unificadamente. La fina regulación de sus elementos les permite contender con los procesos cotidianos (aprendizaje, memoria y envejecimiento) y las eventualidades (infarto cerebral, infecciones) para mantener y/o recuperar la integridad del sistema.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Ruy Pérez Tamayo (Medicina Experimental, UNAM) la amable donación de los ratones empleados en este estudio y a la Biól. Mercedes Acosta el apoyo en el mantenimiento de la colonia de ratones en el bioterio de la Facultad de Medicina, UV. También agradecemos el apoyo técnico de la Dra. Julieta Griselda Mendoza Torre Blanca y del Biól. José de Jesús Pérez

Hernández. Finalmente agradecemos al Dr. Pablo Pacheco, Dr. Carlos Contreras y Dr. Miguel Ángel Camacho, por facilitarnos el uso del equipo en los laboratorios a su cargo. Este proyecto ha sido financiado gracias a los recursos de PROMEP 103.5/07/2753 (PTC-262), PFAMU PI200306, PAPIIT IX232604 y CONACYT 54239, 53194, P45872-M, 38615N.

BIBLIOGRAFÍA

1. Drury HA y cols. Computerized mappings of the cerebral cortex: a multiresolution flattening method and a surface-based coordinate system. *J Cogn Neurosci* 1996; 8: 1-28.
2. Rauschecker JP. Compensatory plasticity and sensory substitution in the cerebral cortex. *Trends Neurosci* 1995; 18(1): 36-43.
3. Merrill JE, Jonakait GM. Interactions of the nervous and immune systems in development, normal brain homeostasis, and disease. *FASEB J* 1995; 9(8): 611-8.
4. Becher B, Prat A, Antel JP. Brain-immune connection: immuno-regulatory properties of CNS-resident cells. *Glia* 2000; 29(4): 293-304.
5. Cohen N. Norman Cousins Lecture. The uses and abuses of psychoneuroimmunology: a global overview. *Brain Behav Immun* 2006; 20(2): 99-112.
6. Paus R, Theoharides TC, Ark PC. Neuroimmunoendocrine circuitry of the 'brain-skin connection'. *Trends Immunol* 2006; 27(1): 32-9.
7. Sternberg EM. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(4): 318-28.
8. Wrona D. Neural-immune interactions: an integrative view of the bidirectional relationship between the brain and immune systems. *J Neuroimmunol* 2006; 172(1-2): 38-58.
9. Ambrosini E, Aloisi F. Chemokines and glial cells: a complex network in the central nervous system. *Neurochem Res* 2004; 29(5): 1017-38.
10. Boulanger LM, Shatz CJ. Immune signalling in neural development, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci* 2004; 5(7): 521-31.
11. Allen NJ, Barres BA. Signaling between glia and neurons: focus on synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 2005; 15(5): 542-8.
12. Gage FH, McAllister AK. Neuronal and glial cell biology. *Curr Opin Neurobiol* 2005; 15(5): 497-9.
13. Freeman MR. Sculpting the nervous system: glial control of neuronal development. *Curr Opin Neurobiol* 2006; 16(1): 119-25.
14. Martin KC, Peles E. Neuronal and glial cell biology. *Current Opinion in Neurobiology* 2006; 16: 489-91.
15. Oberheim NA, Wang X, Goldman S, Nedergaard M. Astrocytic complexity distinguishes the human brain. *Trends Neurosci* 2006; 29(10): 547-53.
16. Wu CY y cols. Expression of 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase in the amoeboid microglial cells in the developing rat brain. *Neuroscience* 2006; 142(2): 333-41.
17. Ziv Y y cols. Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood. *Nat Neurosci* 2006; 9(2): 268-75.
18. Bains JS, Oliet SH. Glia: they make your memories stick! *Trends Neurosci* 2007; 30(8): 417-24.
19. Bessis A, Béchade C, Bernard D, Roumier A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia* 2007; 55(3): 233-8.
20. Vincent AJ, Lau PW, Roskams AJ. SPARC is expressed by macroglia and microglia in the developing and mature nervous system. *Dev Dyn* 2008; 237(5): 1449-62.
21. Sadato N y cols. Activation of the primary visual cortex by Braille reading in blind subjects. *Nature* 1996; 380(6574): 526-8.

22. Cohen LG y cols. Functional relevance of cross-modal plasticity in blind humans. *Nature* 1997; 389(6647): 180-3.
23. Sadato N, Okada T, Honda M, Yonekura Y. Critical period for cross-modal plasticity in blind humans: a functional MRI study. *Neuroimage* 2002; 16(2): 389-400.
24. Maurer D, Lewis TL, Mondloch CJ. Missing sights: consequences for visual cognitive development. *Trends Cogn Sci* 2005; 9(3): 144-51.
25. Ptito M, Kupers R. Cross-modal plasticity in early blindness. *J Integr Neurosci* 2005; 4(4): 479-88.
26. Sathian K. Visual cortical activity during tactile perception in the sighted and the visually deprived. *Dev Psychobiol* 2005; 46(3): 279-86.
27. Laemle LK, Strominger NL, Carpenter DO. Cross-modal innervation of primary visual cortex by auditory fibers in congenitally anophthalmic mice. *Neurosci Lett* 2006; 396(2): 108-12.
28. Bronchti G, Schönenberger N, Welker E, Van der Loos H. Barrelyfield expansion after neonatal eye removal in mice. *Neuroreport* 1992; 3(6): 489-92.
29. Rauschecker JP, Tian B, Korte M, Egert U. Crossmodal changes in the somatosensory vibrissa/barrel system of visually deprived animals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(11): 5063-7.
30. Röder B y cols. Improved auditory spatial tuning in blind humans. *Nature* 1999; 400(6740): 162-6.
31. Théoret H, Merabet L, Pascual-Leone A. Behavioral and neuroplastic changes in the blind: evidence for functionally relevant cross-modal interactions. *J Physiol Paris* 2004; 98(1-3): 221-33.
32. Kujala T, Alho K, Näätänen R. Cross-modal reorganization of human cortical function. *Trends Neurosci* 2000; 23(3): 115-20.
33. Pascual-Leone A y cols. Transcranial magnetic stimulation and neuroplasticity. *Neuropsychologia* 1999; 37(2): 207-17.
34. Bavelier D, Neville HJ. Cross-modal plasticity: where and how? *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(6): 443-52.
35. Inoue K. The function of microglia through purinergic receptors: neuropathic pain and cytokine release. *Pharmacol Ther* 2006; 109(1-2): 210-26.
36. Terayama R y cols. Activation of microglia and p38 mitogen-activated protein kinase in the dorsal column nucleus contributes to tactile allodynia following peripheral nerve injury. *Neuroscience* 2008; 153(4): 1245-55.
37. Zheng D, Purves D. Effects of increased neural activity on brain growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(6): 1802-6.
38. Lawson LJ, Perry VH, Dri P, Gordon S. Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience* 1990; 39(1): 151-70.
39. Blinzing K, Kreutzberg G. Displacement of synaptic terminals from regenerating motoneurons by microglial cells. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 1968; 85(2): 145-57.
40. Aldskogius H, Liu L, Svensson M. Glial responses to synaptic damage and plasticity. *J Neurosci Res* 1999; 58(1): 33-41.
41. Cullheim S, Thams S. The microglial networks of the brain and their role in neuronal network plasticity after lesion. *Brain Res Rev* 2007; 55(1): 89-96.
42. Bruce-Keller AJ. Microglial-neuronal interactions in synaptic damage and recovery. *J Neurosci Res* 1999; 58(1): 191-201.
43. Dijkstra S y cols. CD81 and microglial activation in vitro: proliferation, phagocytosis and nitric oxide production. *J Neuroimmunol* 2001; 114(1-2): 151-9.
44. Ziv Y, Schwartz M. Immune-based regulation of adult neurogenesis: implications for learning and memory. *Brain Behav Immun* 2008; 22(2): 167-76.
45. Kim WK, Ganea D, Jonakait GM. Inhibition of microglial CD40 expression by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is mediated by interleukin-10. *J Neuroimmunol* 2002; 126(1-2): 16-24.
46. Delgado M, Leceta J, Ganea D. Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide inhibit the production of inflammatory mediators by activated microglia. *J Leukoc Biol* 2003; 73(1): 155-64.
47. Kuhn SA y cols. Microglia express GABA(B) receptors to modulate interleukin release. *Mol Cell Neurosci* 2004; 25(2): 312-22.
48. Martínez-Méndez R. Determinación de aminoácidos neurotransmisores en la corteza somatosensorial de ratas enucleadas al nacimiento. (Tesis de Licenciatura). México (D. F.): UNAM. 2008.
49. Neumann H, Misgeld T, Matsumuro K, Wekerle H. Neurotrophins inhibit major histocompatibility class II inducibility of microglia: involvement of the p75 neurotrophin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(10): 5779-84.
50. Gómez-Palacio-Schjetnan A, Escobar ML. In vivo BDNF modulation of adult functional and morphological synaptic plasticity at hippocampal mossy fibers. *Neurosci Lett* 2008; 445(1): 62-7.