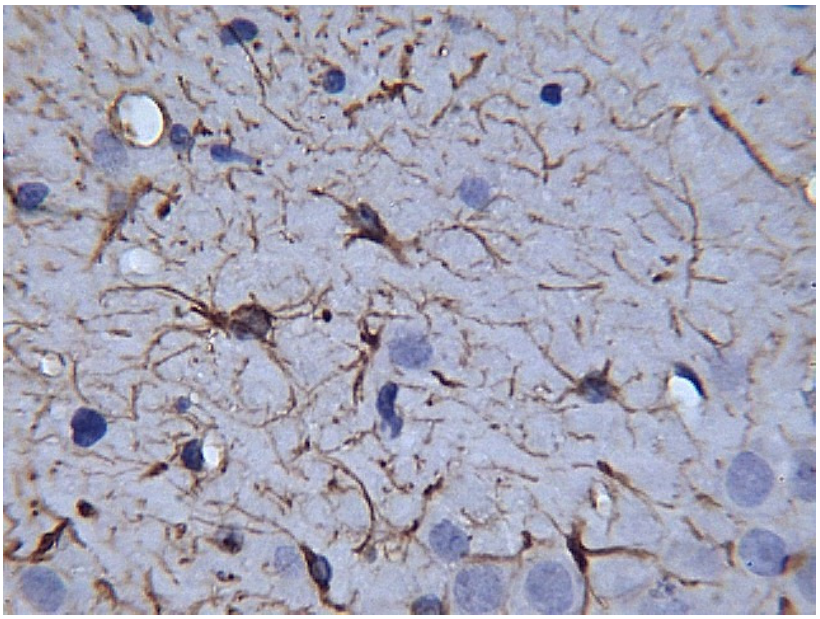
CONSORCIO DE UNIVERSIDADES

Informe final del Proyecto del Consorcio de Universidades 2014-2015

“Cambios de Expresión del Neuropéptido Y en el Sistema Nervioso Central de un modelo animal con Parkinson”



Neuronas NPY CA1 Hipocampo en cerebro con Parkinson

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN DEL PROYECTO

Walter Riofrío Ríos, Coordinador del Proyecto
Universidad Peruana Cayetano Heredia

Profesor Asociado en el Departamento de Estadística, Demografía, Humanidades y Ciencias Sociales de la Facultad de Ciencias y Filosofía, en la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Obtuvo el PhD en Filosofía en la Universidad de Salamanca con honores: Sobresaliente cum laude. En los últimos veinte años, se ha especializado en investigaciones sobre las Ciencias de la Complejidad. Fundamentalmente, en el campo de la evolución celular y molecular. Los resultados de estas investigaciones, han aparecido en journals internacionales y como capítulos de libros (junto a reconocidos expertos mundiales en estos temas). Posteriormente, ha logrado incursionar en la Biología de Sistemas y en la Biología Sintética, en donde ha podido desarrollar un modelo de protocélula que le permite, y le permitirá investigar, tanto en los fenómenos anteriores al origen de la vida, así como -desde la perspectiva bottom-up-, en la generación de posibles aplicaciones que tendrían utilidad en las ingenierías y en la biomedicina.

Luis Ángel Aguilar Mendoza
Universidad Peruana Cayetano Heredia

Director del Laboratorio de Neurociencia y Comportamiento de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Consultor Internacional en Neurociencia. Doctor en Neurociencias y Comportamiento, Universidad Pablo de Olavide- Sevilla, España. Postdoctorado en Neurociencia, Universidad de Salamanca, España. Postdoctorado en Neurofisiología, Universidad Newcastle UK-Universidad de la Republica Uruguay. Master en Neurociencias, Universidad Internacional de Andalucía, España. Diplomado en Docencia Universitaria, UNIFE. Estudios de pregrado en la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Autor de 67 publicaciones entre artículos científicos, libros y capítulos de libro, Conferencista internacional en 20 países, revisor de 4 revistas indizadas internacionales, pertenece a 14 sociedades científicas nacionales e internacionales. Docente de pre y postgrados de 10 universidades del Perú. Neurocientífico, representante peruano ante la International Brain Research Organization y Federación Latinoamericana de Sociedades de Neurociencias. Presidente de la Sociedad Para la Neurociencias del Peru, SONEP (2015-2018).

Rocío Callupe Pérez
Pontificia Universidad Católica del Perú

Profesora e investigadora de la Sección de Electricidad y Electrónica de la PUCP. Recibió el título Ingeniera Electrónica, en la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP) en 2008. En 1997 terminó su Maestría en Ingeniería Biomédica en la Universidad Federal de Santa Catarina (UFSC) en Brasil. Y en 1999 culminó sus cursos del Programa de Doctorado en Ingeniería Biomédica en la Universidad Estadual de Campinas UNICAMP en Brasil. Fue investigador de proyectos ganadores en el concurso de Programas de Ciencia y Tecnología FYNCyT del Perú 2009, 2013 y 2014. A la fecha, es investigadora de un proyecto ganado en concurso Círculos de Investigación en Ciencia y Tecnologías FONDECYT 2016. Es autora y coautora de 32 artículos nacionales e internacionales, expositor en más de 10 conferencias de foros nacionales e

internacionales. Sus intereses académicos y profesionales la han llevado a contribuir con el diseño de sistemas de rehabilitación tecnológica para la mejora de vida de pacientes con discapacidad con problemas motores, y asesorar al Grupo Women in Engineering-IEEE PUCP de 2015-2016.

Ricardo Braun
Universidad de Lima

Profesor Asociado en la Facultad de Psicología de la Universidad de Lima. Se graduó *summa cum laude* en filosofia analítica en la Universidad de Texas en Dallas. Es magister y candidato a doctor en filosofia por la Universidad Católica del Perú, y licenciado en educación por la Universidad Cayetano Heredia. Realizó los estudios doctorales de filosofía en Queen's University, Ontario, Canadá. Ha sido investigador visitante en la Facultad de Psicología de la Universidad Católica de Lovaina, Bélgica. Es especialista en epistemología, filosofía de la ciencia y filosofía de la psicología. Ha publicado numerosos artículos sobre el problema de la mente en diversas revistas especializadas. Es autor de *El problema mente-cuerpo: un enfoque neurofisiológico* (1989), *Elementos de lógica simbólica* (1992), y junto con Diógenes Rosales, *Introducción a la psicología* (1996). *¿Qué soy yo? Una introducción a la filosofía de la mente* (2009) y *De la mente al texto* (2012). Actualmente viene investigando el problema del emergentismo biológico y su relación con la conciencia moral humana.

Fig.1. Equipo de investigación del proyecto en el Laboratorio de Investigación Biomecánica y Robótica Aplicada de la Pontificia Universidad Católica del Perú. De izquierda a derecha: Ricardo Braun, Rocío Callupe, Walter Riofrío y Luis Aguilar

ÍNDICE GENERAL

Introducción **1**

CAPÍTULO 1
El Nivel Molecular: Cambios en la expresión del neuropéptido Y **13**

CAPÍTULO 2
Parkinson, Redes Neuronales y Procesos Mentales **32**

CAPÍTULO 3
Los niveles personal y social del Parkinson **46**

CAPÍTULO 4
Proyecciones Futuras
(Tecnologías aplicadas para adquirir información del rendimiento de la memoria espacial del modelo animal y su utilidad en Parkinson) **64**

Conclusiones Generales y Recomendacioness Finales **85**

Bibliografía **89**

Introducción: un enfoque multidisciplinar del problema

1. La experiencia multidisciplinar en la ciencia

El presente trabajo es resultado de la iniciativa del Consorcio de Universidades para promover el trabajo interdisciplinario e interuniversitario. Esta iniciativa parte de la convicción de que se requiere empezar a pensar, investigar y trabajar con el concurso de especialistas de diferentes áreas y, asunto adicional, interesados en abordar un mismo tema de investigación. Esto no es fácil.

La investigación interdisciplinaria no es nueva. En efecto, una de las áreas que más ha cosechado frutos de los esfuerzos colectivos es la ciencia cognitiva. Y por ello, nos permitimos comentar sobre esta posible nueva ciencia como un ejemplo de un trabajo multidisciplinar exitoso. Este ejemplo nos ha permitido reflexionar sobre nuestro propio trabajo en el presente proyecto.

La ciencia cognitiva es llamada por algunos la “nueva ciencia de la mente” (Gardner, 1985). Con el fracaso de la visión reduccionista del conductismo, y con el surgimiento de la ingeniería de la inteligencia artificial, se encontró una forma de modelar mejor la inteligencia humana, a partir del modelo computacional, aun cuando el modelo siguiente suponga la refutación del mismo modelo que le dio origen.

Este modelo provocó una serie de preguntas que requería la colaboración de especialistas de diferentes áreas puesto que se abordaban cuestiones que no podían ser resueltas por una sola disciplina. Así, el esfuerzo conjunto se abocó a tratar problemas acerca de la adquisición, almacenamiento, y funcionamiento de la inteligencia artificial. Y encontraron que científicos de la psicología, ingeniería, computación, lingüística, y neurociencia podían ayudar en esta empresa compleja. También se pensó que era importante incorporar a filósofos, por su tradicional visión integradora de diferentes áreas del conocimiento y, por lo tanto, producir una visión sinóptica del trabajo. En la actualidad, se incorpora además, a los antropólogos, para tratar de entender el aspecto cultural en un modelo hasta el momento, computacional.

¿Podríamos decir, como ejemplo a seguir, que los departamentos de ciencia cognitiva trabajan en forma interdisciplinaria? Esta pregunta es difícil de contestar, si a esto nos referimos acerca de la forma del trabajo científico cotidiano. De hecho, algunos autores que trabajan como miembros de departamentos de ciencia cognitiva no están de acuerdo de catalogarla como tal. John Searle, de la Universidad de California (Berkeley) lo dice elocuentemente:

> No estoy seguro que hay tal cosa como la ciencia cognitiva. Pero es frecuentemente útil juntar a personas con intereses comunes y ponerlos a trabajar juntos. No tomo la organización por departamentos universitarios muy en serio: ¿es usted realmente un filósofo, o un lingüista, o un historiador, o un psicólogo, o un científico cognitivo? Esas preguntas no son realmente muy interesantes, y yo creo que esas son preocupaciones para los decanos universitarios—muy útiles para los presupuestos (1995, 203-204).

Este comentario resulta iluminador cuando reflexionamos acerca de la importancia (o no) de las nomenclaturas o denominaciones que tienen los estudios interdisciplinarios para luego abandonar lo que parece esencial: el interés común por un tema problemático. Pero además revela la diversidad de interpretación que puede originar un concepto como el de interdisciplinariedad. Este concepto puede ser vago, pero al mismo tiempo, lo percibimos como uno relevante y digno de tomarse seriamente.

Parte de la importancia, creemos, radica en que nos damos cuenta, intuitivamente o reflexivamente, que algunos problemas sobrepasan la capacidad explicativa de una sola disciplina y requiere de la colaboración de personas formadas en diferentes campos. Sin embargo, el interés común puede o no traer diferentes puntos de vista.

Se puede pensar en un trabajo interdisciplinario al menos en dos formas: Unos investigadores pueden concebir que el trabajo consiste en aprender los métodos y problemas de otros campos para mejorar su propia práctica. Otros

pueden utilizar los hallazgos y resultados de otras especialidades para aplicarlo al propio, continuando con los estilos y el mismo campo de trabajo en el que fueron entrenados. De allí que, nuestro equipo ha tratado de esclarecer, en la medida de la dificultad señalada esta primera encrucijada conceptual.

2. El enfoque no reduccionista del proyecto

Hemos tomado una posición más cercana a la primera de las dos alternativas. Es decir, hemos preferido aprender y tratar de poner en práctica las formas de investigación que traemos de nuestra diferente formación. Pero, y aquí es quizás el escollo más profundo, el conjunto de suposiciones y concepciones suele ser el más complejo de compartir y este trabajo resume esta problemática en la dinámica incipiente del trabajo colectivo.

El punto de partida compartido ha sido el rechazo al reduccionismo tanto en la metodología-como en la discusión de los resultados de la investigación—como en su metafísica. Como se explicará más adelante, la visión que tenemos es de la realidad plural en sentido ontológico, y que esta se expresa en diferentes descripciones que se expondrán en los capítulos siguientes. El haber alcanzado o no en nuestro trabajo individual esta visión compartida, es algo que se podrá juzgar eventualmente. Sin embargo, es importante recalcar la dificultad y proceso para llegar a un punto de convergencia, que si bien desde el principio fue aceptado, en el trabajo práctico no siempre se podía encontrar la forma de expresión de la visión compartida. Y por ello consideramos que este trabajo no solo forma parte de un compromiso cumplido, sino que constituye un proceso de maduración como investigadores científicos de una nueva generación.

El trabajo encomendado por el Consorcio de Universidades tiene una característica institucional que se debe mencionar. Los miembros del equipo de esta investigación son profesores que pertenecen a tres de las universidades del Consorcio. El Consorcio representa una visión compartida de Universidad que ha permitido el fácil acercamiento y colaboración entre los miembros: pertenecemos a universidades privadas sin fines de lucro, con una reconocida

trayectoria nacional y creciente visibilidad internacional; universidades que apoyan evidentemente la investigación científica; universidades que confían en sus investigadores. Esos elementos han resultado, en la práctica, en un motivador extrínseco para provocar un adecuado intercambio formal e informal en un clima idóneo. Queda claro que un ambiente así permite una influencia positiva y provoca una motivación para poder ampliar la perspectiva individual. El trabajo interdisciplinar parece exigir este tipo de requisito: un adecuado rol institucional.

Nos preguntamos, al terminar el trabajo, y por lo tanto, redactar la introducción, si esta visión institucional tendría un rol en el futuro de investigaciones similares o diferentes. Nos referimos al rol institucional el que toma el Consorcio acerca de la consolidación de diseños de programas que confieren al trabajo interdisciplinario una realidad continua. Tal diseño supone cambiar nuestros modos de organizar el modo de adquisición y trasmisión del conocimiento partiendo de un nuevo modelo basado en la interdisciplinariedad.

La creación de carreras o departamentos interdisciplinarios es una alternativa que supondría eventualmente la formación de nuevas especialidades, con investigadores y estudiantes entrenados a pensar y actuar en esta forma. Para volver al ejemplo propuesto, numerosas universidades del mundo cuentan actualmente con departamentos de ciencia cognitiva, formando estudiantes con un currículo novedoso pero interdisciplinar.

Es prematuro evaluar los resultados puesto que se esperará un grupo de segunda generación que redefina los problemas que se supone la primera generación está abordando con este modelo.

Sin embargo, y como esta discusión pretende mostrar también, es posible que el modelo multidisciplinar no pueda llevarse a cabo en la realidad. El conocimiento actual es tan vasto que pareciera una quimera formar estudiantes en varias especialidades a nivel de expertos. Se temería que serían conocedores de muchas cosas pero expertos en nada. Tómese en cuenta la dificultad que atraviesan docentes, investigadores y estudiantes para dominar

un solo campo de estudio, dada la sobre especialización a la que se ven desafiados. Esta segunda opción no tiene que ser vista en forma pesimista como un fracaso de los intentos de entender los problemas en forma interdisciplinar, puesto que, dado el clima favorable para la comprensión interdisciplinar de algunos problemas, los nuevos currículos podrán empezar de la forma tradicional—de lo especializado a lo multidisciplinar—para que en el futuro la dirección sea la inversa: partir de la visión multidisciplinar de la disciplina como un núcleo propedéutico para dar lugar a un campo especializado. El punto de partida multidisciplinar permitiría entender los problemas y objetivos tal como lo plantean las diversas disciplinas para dar lugar en una segunda o tercera generación a una nueva forma de especialización.

Es evidente que nuestra visión es altamente especulativa, sin embargo, es menester expresarla como resultado de nuestras numerosas deliberaciones acerca y fuera del proyecto mismo, en tanto, reiteramos, miembros de la comunidad de investigadores del Consorcio.

3. La pluralidad de la realidad

La concepción pluralista de la realidad se define actualmente en términos asociados a otro concepto que presentamos para elaborar sobre nuestra visión: emergentismo.

El término emergencia es utilizado en diferentes sentidos, pero nos concentraremos, no tanto en el uso no popular, sino más bien en el vocabulario empleado en el ambiente académico contemporáneo. El concepto de emergentismo es usado generalmente en las doctrinas de orientación no-reduccionistas tanto de la biología como de la psicología y otras disciplinas sociales.

Desde una perspectiva metafísica, una postura emergentista concibe que la realidad existe y se presenta en forma plural, de ahí que, en primer lugar, se podría afirmar que el emergentismo es una forma de pluralismo (Bunge 1977).

Sin embargo, el pluralismo que da sentido al emergentismo debe admitir que existen diferentes niveles de organización que son ontológicamente de igual valor.

En segundo lugar, el emergentismo sostiene que en cada nivel superior de organización, aparecen (o emergen) nuevas e irreducibles propiedades que no están presentes en el nivel inferior. Estas propiedades serían propiedades "emergentes", que serían predicadas de un todo organizado, y no de sus partes o componentes.

Otra forma de presentar la tesis emergentista es sosteniendo que las propiedades de mayor nivel son propiedades de segundo orden, que son el resultado (o emergen) de las propiedades de primer orden.

Desde una perspectiva epistemológica, cualquier doctrina emergentista supone que el conocimiento de las propiedades emergentes no puede ser derivado del conocimiento de las propiedades de las partes que componen el ente emergente, y las leyes que se puedan formular en el nivel emergente no son deducibles de las que se obtienen en los niveles inferiores.

Tomemos la esquizofrenia como un ejemplo. Es una enfermedad que tiene factores biológicos, sociales y ambientales que sugiere que existe en diferentes niveles de organización. Así, una perspectiva de nivel múltiple de la esquizofrenia evita un miope enfoque único de esta compleja enfermedad que no sólo produciría una versión incompleta sino, posiblemente falsa de la enfermedad.

Los casos descritos pueden proporcionarnos un marco de referencia para la unidad que tenemos a nivel cerebral. La diversidad de la realidad, dada la evolución cósmica, requiere una apropiada construcción mental de la organización jerárquica de los fenómenos para aprehender las diferentes propiedades de los objetos (sean átomos, la tierra, las células, los organismos, los grupos sociales, etc.). Inevitablemente las diferencias de propiedades

requieren un enfoque pluralista en la explicación, no sólo de orden epistemológico, sino también ontológico.

El proyecto reduccionista presupone una explicación ontológica monista. Pero esta presuposición no toma en cuenta no sólo la teoría científica sino la práctica científica. Consideremos nuevamente la diferencia entre la física newtoniana y la relativista. Una habla de espacio curvo, la otra de fuerzas gravitatorias. Preguntar cuál metafísica es la correcta sería simplemente no entender el punto de la explicación física. Aquí hay dos ontologías. Cada una proporciona una intuición en la explicación de los fenómenos. Este ejemplo es análogo de muchos que encontramos en las diferentes ciencias. ¿Por qué debiéramos esperar que todo fuera explicado con una misma ontología? La historia reciente de la física nos demuestra la importancia de reconocer una metafísica pluralista. La controversia acerca de la mecánica cuántica nos proporciona una luz para darnos cuenta del mundo en que vivimos. Y el mundo no parece estar de acuerdo con las expectativas de algunos reduccionistas. Como lo señala McMullin:

> ¿Por qué hemos pretendido que la ontología del micromundo sea igual al del macromundo? La tercera regla de Newton para filosofar (que decretaba que el macromundo debiera ser semejante al micromundo en todos sus detalles esenciales) no ha sido más que una esperanza piadosa (1984, p.13).

Una metafísica pluralista no es incompatible con la unidad de la ciencia. Al contrario, puesto que no hay una última verdad científica conocida, la integración entre los niveles de las teorías puede demostrar ser una explicación más fructífera y acertada que de otro modo se nos presentaría un mundo de eventos inconexos.

4. Aplicación del pluralismo a la enfermedad de Parkinson

Tomando en cuenta todo lo anteriormente mencionado, se puede señalar que la enfermedad de Parkinson se presenta cuando se dañan o mueren un

conjunto de neuronas en el cerebro. Aun cuando, muchas áreas del cerebro se ven afectadas, los síntomas más comunes son el resultado de la pérdida de neuronas en un área cerca de la base del cerebro conocida como sustancia negra.

El Parkinson es una enfermedad de carácter crónico, progresivo y lento, que afecta a la zona del cerebro encargada del control y coordinación del movimiento, del tono muscular y de la postura.

En esta zona, la sustancia negra, existe un componente químico, la dopamina, compuesto esencial para la regulación de los movimientos, es decir, para que los movimientos se realicen de una forma efectiva y armónica.

Así, en el Parkinson se produce una "degeneración" de la sustancia negra, por causas diversas, cuya consecuencia es la disminución de la dopamina. Es por ello que las principales manifestaciones de la enfermedad expresan un control deficiente de los movimientos: Temblor, lentitud generalizada (bradicinesia), rigidez y alteraciones de la postura y de la marcha.

Además, la dopamina es el mensajero químico responsable de transmitir señales a partir de la sustancia negra y la siguiente región del cerebro, llamada el cuerpo estriado, para producir movimientos uniformes y deliberados.

La pérdida de dopamina produce patrones anormales de activación nerviosa dentro del cerebro que causan deterioro del movimiento. Los estudios demuestran que la mayoría de las personas con Parkinson han perdido de un 60 a un 80 por ciento, o más, de las células productoras de dopamina en la sustancia negra en el momento de la aparición de los síntomas, y que también se produce pérdida de las terminaciones nerviosas que producen el neurotransmisor norepinefrina.

Se sabe que la norepinefrina está estrechamente relacionada con la dopamina. Es el mensajero químico excitatorio principal del sistema nervioso simpático, la parte del sistema nervioso que controla muchas de las funciones automáticas

del cuerpo, como el pulso y la presión arterial. La pérdida de norepinefrina puede ayudar a explicar varias de las características no motrices que se ven en la enfermedad de Parkinson, entre ellas, la fatiga y las anomalías relacionadas con la regulación de la presión arterial.

Así, además, se ha postulado que los niveles bajos de tanto la dopamina, como la norepinefrina, estarían relacionados con la depresión (un síntoma que presentan muchos pacientes con Parkinson).

Pero, a pesar de que la correlación entre las deficiencias del comportamiento motor, y los desniveles de ciertos componentes moleculares parece bastante clara ¿cómo las variaciones de los niveles de estos compuestos moleculares, se correlacionarían con ciertos fenómenos (y patologías) de la conciencia humana? Preguntas de esta clase, son las que nos han animado a lo largo de nuestra investigación.

De esta manera, podemos afirmar que el Parkinson es una enfermedad neurológica que contempla varios niveles, en donde cada uno de ellos nos puede mostrar facetas muy específicas del desarrollo y desenvolvimiento de esta enfermedad. Facetas que hemos detectado, y que se irán mostrando sucesivamente en los capítulos siguientes, como resultado de nuestras investigaciones.

Consideraciones filosóficas y éticas en la experimentación: Aceptabilidad y limitaciones del estudio de ratas en la enfermedad de Parkinson y la eventual necesidad de estudios en otros animales.

El empleo de modelos básicos de animales en la investigación para la identificación de determinadas enfermedades, diagnóstico, y eventual tratamiento o cura es una práctica aceptada por la comunidad científica médica. Aun cuando no es unánime la aceptación moral del uso de animales, en particular de primates, en la experimentación médica, pocos investigadores negarían la notable contribución obtenida del uso de animales en la identificación y desarrollo por ejemplo de numerosas vacunas que han salvado

la vida de millones de humanos. De hecho, la defensa del uso de animales en la investigación científica está implícitamente secundada por la vasta comunidad de investigadores biomédicos practicantes. Por ello, no constituye una tensión moral la necesidad del empleo de animales en la comprensión de fenómenos que impacten en el conocimiento tanto de la enfermedad como la salud humana.

La nuestra es una investigación con un modelo básico de la enfermedad en ratas de laboratorio. Como en una cantidad considerable de investigaciones biomédicas, los roedores son excelentes modelos para entender los procesos fisiológicos ocurrentes en mamíferos. La comprensión de las funciones neuronales, del sistema nervioso central empieza con mamíferos simples. El caso de la enfermedad de Parkinson es uno de tantos cuya investigación amerita este modelo. Sin embargo, dada la complejidad de las funciones cerebrales superiores, los estudios en ratas de laboratorio pueden tener limitaciones en la posibilidad de aplicar el razonamiento analógico para estas funciones.

Se puede estudiar los signos y síntomas del Parkinson en cultivo celular, en moscas y en ratas cuyos sistemas de dopamina se encuentran afectados. Como se esperaría, existe diferencia inter-específica de los sistemas de la función de la dopamina entre las ratas y los humanos. Una de las diferencias que habrá de tomarse en cuenta, es que usando el modelo de rata, el uso de algunas sustancias para aliviar los efectos del Parkinson tiene efectos terapéuticos en ratas pero no en humanos y, en algunos casos, puede tener efectos perjudiciales. Se debe advertir que los estudios básicos no deben extrapolarse a estudios clínicos.

Como lo comenta E. Redmond, en su informe al reconocido *Centro de Bioética Hastings*, el caso del uso del compuesto MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine), tuvo resultados distintos cuando se empleó en ratas y luego en primates. En las ratas no hubo efectos negativos, mientras que en monos produjo efectos perjudiciales. Según Redmond, la exposición accidental de humanos al MDTP causó efectos semejantes a los observados en los monos.

Es obvio que todo procedimiento que depende de una analogía fisiológica tiene limitaciones. Sin embargo, es importante subrayarlo en esta investigación, puesto que justifica el eventual cambio de animal de experimentación cuando las funciones básicas sean mejor entendidas y se requiera avanzar en funciones superiores. Los monos estudiados por el mismo Redmond (*Clorocebus sabaeus*) han demostrado la necesidad, no inicial, pero futura, de realizar analogías con animales que más replican algunas de nuestras funciones superiores y compleja fisiología.

5. Organización del informe

En el primer capítulo se presentarán los experimentos de laboratorio que envuelven la averiguación sobre los posibles cambios en la expresión del neuropéptido Y, junto a las regiones del cerebro que estarían implicadas en la presencia del mal del Parkinson.

En el segundo capítulo, se desarrolla cómo estas áreas implicadas del cerebro tendrían que ver con determinadas características que se consideran asociadas a la emergencia de algunas propiedades cognitivas, que son condiciones de la aparición de los fenómenos de la conciencia, y que se encontrarían implicados en el desarrollo del Parkinson.

En el tercer capítulo, estudiamos lo que la enfermedad del Parkinson significa y provoca en el nivel de la persona, es decir, en su psicología, y su relación con su entorno, a nivel familiar y social.

Finalmente, en el cuarto capítulo, se proponen unas tecnologías complementarias para adquirir información del rendimiento de la memoria espacial del modelo animal y su posible utilidad para el estudio del Parkinson.

.

CAPÍTULO 1

El Nivel Molecular: Cambios en la expresión del neuropéptido Y

El objetivo de este primer capítulo, es determinar los cambios en la expresión del neuropéptido Y (NPY) en las áreas del sistema nervioso central luego del establecimiento de la enfermedad de Parkinson.

Además, se declara expresamente que los animales de experimentación utilizados en el presente trabajo, fueron manipulados y tratados de acuerdo a la normativa de la **Sociedad Americana de Neurociencias**, para el uso de **Animales de Experimentación**.

1.1 Procedimiento experimental para la generación de enfermedad de Parkinson en animal de laboratorio

El neurotóxico 6-hidroxidopamina (6-OHDA) ha sido utilizado para generar modelos de la enfermedad de Parkinson (EP). A la fecha se ha establecido que si bien el modelo neurodegenerativo inducido por la 6-OHDA no reproduce la totalidad de síntomas de la enfermedad, sí replica procesos celulares tales como el estrés oxidativo, la neurodegeneración, la neuroinflamación y la muerte neuronal por apoptosis.

Se utilizaron ratas macho cepa Sprague Dowley (280-310 g). El animal fue anestesiado vía intramuscular con una mezcla de clorhidrato de tiazina (8.6 mg/KPC) y clorhidrato de Ketamina (57 mg/KPC), la mezcla en 1mg/KPC. Una vez anestesiado el animal y antes de comenzar con el abordaje quirúrgico, se le administró sulfato de atropina (0.05 mg/kg) por vía subcutánea para disminuir las secreciones bronquiales. Se controló la temperatura corporal de la rata y se le mantuvo a 38 ^{0}C mediante una manta eléctrica y una sonda rectal.

Tras esta preparación preliminar, se colocó el animal en un aparato estereotáxico equipado con unas barras para sujetar los oídos que se han modificado con el fin de poder aplica intraventriculamente la 6 hidroxidopamina. Se procedió con una incisión sagital previa inyección subcutanea de lidocaína, se desinsertaron los músculos unidos a los huesos occipital y temporal y se quitó el periostio. Inmediatamente después se realizó una craneotomía para la zona intraventricular (localizados mediante coordenadas estereotáxicas según atlas de Paxinos, 1998), se quitó la duramadre con unas tijeras tipo ‘Castroviejo’ y se avanzó el electrodo de registro con un microposicionador por control remoto.

Cirugía en grupos:
Los animales fueron divididos en 3 grupos: Control (N=5), Operado (N=5), y Operado con 6-OHDA (N=10).
En la cirugía estereotáxica el grupo Operado y Operado 6-OHDA fueron anestesiados con ketamina.

Grupos de trabajo:

1.- Grupo Control: No recibieron nada. No procedimiento quirúrgico.
2.- El grupo Operado: recibió 6µL de solución vehículo (solución.salina 9% con 0.2% ácido ascórbico) en MFB siguiendo las anterior-posterior (AP) -2.00mm, Lateral-dorsal (LD) +2.00mm, dorsoventral (DV) -8.00mm.
3.- El grupo Operado con 6OHDA: recibió 6-hidróxidopamina hidrobromado en solución vehículo (6-OHDA-HBr + sol.salina 0.9% con 0.2% ácido ascórbico; 30 µgramos en 5uL. Sigma-Aldrich, 50mg/ mL) fue inyectada en la misma posición que el grupo Operado (ver figura 1).

Fig 1: Investigador haciendo la profusión transcardiaca

Día 1º

1) Inhibición de la peroxidasa endógena con la siguiente mezcla

PB 0.1 M .....8 partes

Metanol .....1 parte

H_2O_2 30% ..... 1 parte

durante 10 minutos.

Si la perfusión ha sido buena no es necesario este paso, pues se habrán lavado bien los hematíes.

En el caso de realizarla, lavar bien los cortes con PB 0.1 M con varios pasos durante 1 hora.

2) TBS-Tx pH 8.00 ..... 2 x 15 min

Tris..... 6.06 gr.

NaCl..... 8.85 gr

Tritón X-100 al 20%.....…25 ml

H2O destilada.....…….. 975 ml

Ajustar el pH con HCl hasta 8.00.

3) Complejo ABC .....Una noche a 4°C o 180 min. a Temperatura ambiente

Solución incubación ABC kit:

a) 2.5 ml TBS-Tx pH 8.00 + 20 µl solución A Kit PK-4000

b) Añadir 20 µl solución B Kit PK-4000

(agitar bien y esperar 30 minutos a que el complejo se forme y pueda usarse)

Día 2º

4) TBS-Tx pH 8.00 .....…… 2 x 15 min

5) TRIS-HCl pH 8.00 .....……... 2 x 15 min

Tris..... 6.06 gr

H2O destilada.....1.000 ml

Ajustar el pH con HCl hasta 8.00

6) REVELADO DAB-NIQUEL ..... control visual y microscópico

Solución de revelado DAB-niquel:

a) Solución stock de DAB

Disolver 10 ml de H2O bidestilada al frasco de DAB (100 mgr) y hacer alícuotas de 1 ml.

b) 50 ml Tris-HCl pH 8.00 + 0.2 gr Niquel amonio sulfato + 750 µl DAB 1% + 10 µl H2O2

7) TRIS-HCl pH 8.00 ……..…..... 2 x 10 min

8) TBS-Tx pH 7.60 .....…… 3 x 15 min

9) Anti-Tetramethylrhodamine

1:12.000 Rabbit IgG en TBS-Tx ……..... Una noche a 4°C o 30 min a Tª ambiente

Día 3º

10) TBS-Tx pH 7.60 .....…….. 3 x 15 min

11) Biotinilated anti-Rabbit 1:800 (Jackson) en TBS-Tx. Una noche a 4°C o 30 min a Tª A

Día 4º

12) TBS-Tx pH 7.60 ...……..... 3 x 15 min

13) Complejo ABC .....……..... Una noche a 4°C o 180 min a Tª ambiente

14) TBS-Tx pH 8.00 ...……..... 2 x 15 min

15) TRIS-HCl pH 8.00 ..……..... 2 x 15 min

16) REVELADO DAB ...…… control visual y microscópico

Solución de revelado DAB:

50 ml Tris-HCl pH 7.60 + 750 µl solución stock DAB + 10 µl agua oxigenada

17) TRIS-HCl pH 8.00 ..... 2 x 10 min

1.3 <u>Preparación del tejido neurohistológico</u>

15 días después de la cirugía los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico 40mg/kg (i.p.,intraperitoneal) para luego ser perfundidos transcardiacamente y crioprotegidos para ser procesados por inmunohistoquímica.

1.4 Inmunohistoquímica

Fig. 2: Investigador en procesos de extracción de cerebro para la inmunohistoquimica para NPY

Fijación y procedimiento quirúrgico:

Se estudiaron 20 ratas macho cepa Sprague Dowley (280-310 g) obtenidas del Bioterio (UPCH) a los cuales se les aplicó anestesia profunda mediante la inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico al 6% en dosis de 1 ml por Kg de peso del animal (ver figura 2).

Se lavó el árbol vascular mediante perfusión transcardiaca de una solución fría de dextrano al 2% en tampón fosfato 0.1 M. pH 7.4.

Tampón fosfato 0.4 M:

-Agua destilada…… 2000 ml

-PO_4H_2Na-H_2O…….. 11.04 g.

-PO_4HNa_2……..… 45.12 g.

Solución de lavado:

-Tampón fosfato 0.4 M……... 50 ml
-Agua destilada……..... 150 ml
-Dextrano…… 4 g.

A continuación se fijaron los tejidos por perfusión intracardiaca con una solución de paraformaldehido 1% y glutaraldehido 2.5%, disueltos en el mismo tampón fosfato 0.1 M. pH 7.4.

-Se disolvieron 10 g. de paraformaldehido en 500 ml de agua destilada caliente (60°C), se deja enfriar y se filtra la solución.
-Añadimos 250 ml de Tampón-fosfato 0.4 M
-Añadimos 100 ml de solución comercial de glutaraldehido
25%
-Enrrasamos con agua destilada hasta 1000 ml

Para la intervención se realizó una sección en la línea media ventral del animal, se cortó el diafragma, el peto costal y ambas estructuras se retiraron para exponer la cavidad torácica. Se cortó asimismo el pericardio y se realizó una pequeña incisión en la parte caudal del ventrículo izquierdo, a través del cual se colocó la cánula de perfusión.
Para una mejor fijación el proceso quirúrgico fue rápido, procurándose que el fijador penetre en el árbol vascular cuando aún persiste el latido cardíaco del animal.

Tallado y post-fijación:

Una vez fijado el animal, se diseco el cerebro, se retiraron cuidadosamente las meninges de la superficie utilizando una lupa de mesa y se talló en un molde ad hoc al tamaño y la especie objeto de estudio, de modo que se obtuvieron piezas cuya forma y tamaño sean reproducibles en sucesivos experimentos.
De las piezas talladas, se obtienen mediante un vibrotomo lonchas de 200 µm de grosor, que fueron recogidas en un baño de tampón fosfato 0.1 M. pH 7.4 frío (4 grados centígrados).

A continuación se post-fijaron las secciones obtenidas sumergiéndolas en una solución de tetróxido de osmio 0.5% en tampón fosfato 0.1 M. pH 7.4 durante 30 minutos en ligera agitación y a 4°C y se lavaron del exceso de osmio con repetidos cambios de agua destilada.
Dada la toxicidad de los productos, todo este proceso se realizó bajo campana extractora de gases.

1.5 Cortes Neurohistológicos

Se tallaron las pirámides de los bloques según procedimiento habitual y se obtuvieron secciones seriadas de 8 µm de grosor mediante el uso de un micrótomo por congelación. Es recomendable el uso de cuchilla de diamante para el proceso de corte.
Las secciones se recogieron en portaobjetos gelatinizados que se colocaron sobre una placa caliente. Para gelatinizar los portas, se lavaron bien con un detergente, se aclararon y se dejaron secar. A continuación se introdujeron en una mezcla de agua destilada y gelatina 1% durante unos minutos, se extrajo de la mezcla y se colocaron en una estufa de secado.
Las secciones de 8 um, se colocaron separados en diferentes portaobjetos gelatinados. De forma alternativa los portas se tiñeron inmunocitoquímicamente para azul de toluidina control y neuropéptido Y (NPY). Ver figura 3.

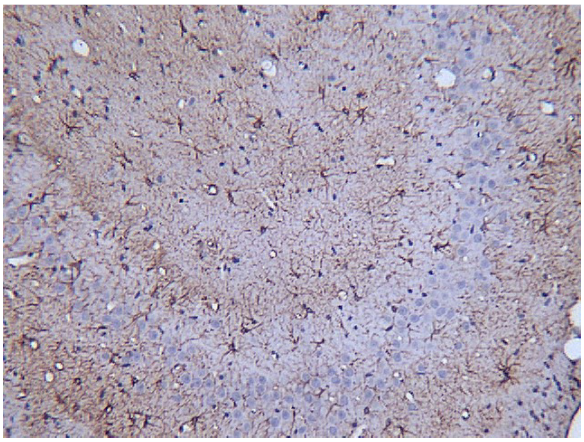


Fig. 3: Hipocampo CA3 con NPY (somas azules)

1.6 Inmunoreacción

Las secciones desplastificadas según el método antes descrito son válidas para ser inmunoteñidas por la mayoría, sino todos, los anticuerpos existentes simplemente realizando las diluciones más adecuadas.

Agua destilada	2 x 5 min.
Metaperiodato sódico 1%	7 min.
Agua destilada	2 x 5 min.
TPBS	2 x 10 min.

100 ml. Tampón fosfato 0.1 M.
200 ml. Tris Tampón 0.05 M
700 ml agua destilada
7 g. NaCl
0.4 g. KCl

Suero normal de caballo en TPBS incubación durante 20 minutos
TPBS 2 x 10 min.
Anticuerpo primario: incubación durante una noche, a 4°C y en una cámara húmeda.

TPBS	2 x 10 min.
TPBS con suero normal	2 x10 min.
Anticuerpo secundario	40 min
TPBS	2 x 10 min.
TPBS con suero normal	2 x10 min.
PAP (peroxidasa-antiperoxidasa)	60 min.
TPBS	2 x 10 min.
Tris Tampón 0,05 M pH 7.4	5 min.
3.3 diaminobencidina (DAB)	5 min

Agregar H_2O_2 para una concentración final 0.01%
La reacción se controló mediante visualización periódica en el microscopio óptico y se paró mediante lavados en Tris Tampón 0.05 M pH 7.4.

Tris Tampón 0.05 M pH 7.4.

Agua destilada……	1.000 ml
Tris……..	6.06 g.

Se deshidrataron las muestras y se montaron con Entellan.
El tejido debe tener un nivel de preservación y una densidad de tinción adecuadas.

Anticuerpos:
Se utilizaron anticuerpos para Neuropeptido Y. Se trataba de anticuerpos policlonales producidos en conejos (producidos y donados por el laboratorio del profesor O.P. Ottersen de la Universidad de Oslo).
La dilución final de los anticuerpos se estableció tras realizar diferentes pruebas. El anticuerpo NPY se utilizó en una dilución final 1:200 con 300 uM de B-alanina-G+P y 300 uM de glicina-G+P y 100uM de glutamato-G+P.
La dilución de los anticuerpos se realizó el día antes del experimento. Los anticuerpos se diluyeron en PBS con 1% de suero normal de cerdo y se añadieron los complejos inhibidores.
La solución final se guardó en la nevera hasta el momento de utilizarla.

1.7 Controles

Complejos inhibidores:

Para eliminar la presencia de anticuerpos no específicos, se añadieron distintos complejos inhibidores, formados por el aminoácido (antígeno) purificado unido a los fijadores paraformaldehído y glutaraldehído. Los aminoácidos (antígenos) unidos a fijadores reaccionan con los anticuerpos a estos y los bloquean. De manera que una vez determinadas las impurezas que contiene el antisuero (anticuerpos diferentes al buscado), la adición de los complejos permite bloquear estos anticuerpos y obtener un antisuero que contenga únicamente el anticuerpo de interés.

Los anticuerpos para NPY, que finalmente se usaron fueron bloqueados con complejos inhibidores para b-alanina, GABA y glutamato, y con anticuerpos para b-alanina y glicina.
Se realizaron tres controles diferentes para asegurar la especificidad de la reacción.

Reacción sin el anticuerpo primario:

Se realizó todo el protocolo de inmunoreacción según la técnica peroxidasa-antiperoxidasa (PAP), pero sin incubar las secciones con el anticuerpo primario. Este resultó negativo, obteniéndose secciones completamente sin teñir. El control tenía una doble función, por una parte, asegurar que la posible reacción encontrada en el tejido se debía únicamente a la presencia del anticuerpo secundario o complejo PAP al tejido. Además pudimos comprobar la ausencia de peroxidasa endógena en el tejido que pudiese reaccionar con el cromógeno diaminobenzidina dando falso positivo.

Control de Absorción:

Este control consistió en añadir al anticuerpo primario el antígeno correspondiente unido a fijadores. Así, al anticuerpo para NPY, se le añadió 300 uM de GABA con glutaraldehído y paraformaldehído (GABA-G+P). El procesado de las secciones con estos anticuerpos dio lugar en todos los casos a un resultado negativo, la supresión completa de la inmunotinción en el tejido y en la sección de “sándwich” (vi.). Esto demostró que los resultados positivos observados con la incubación con el anticuerpo primario eran consecuencia de la unión de cada uno de los anticuerpos con su antígeno específico y no por otras posibles uniones inespecíficas.

Sección control o Sándwich:

El “sándwich” está formado por una pila de capas de homogenado de cerebro, que de forma alternativa contienen diferentes aminoácidos unidos mediante glutaraldehído. Estas capas se incluyen en un bloque de resina y se seccionan mediante un ultramicrotomo a 0.5 um (Zhang et al. 1993). En cada

experimento, junto con las secciones presentadas área ventral tegmental VTA, sustancia negra pars compacta SNPc.,sustancia negra reticulata SNr. Se incluyó una sección del bloque de sándwich, y en todo los casos se comprobó la tinción de la banda de aminoácidos correspondiente al anticuerpo usado NPY.

Secciones control:

La tirosina hidroxilasa TH o tirosina 3-monooxigenasa es la enzima responsable de catalizar la conversión del aminoácido L-tirosina a dihidroxifenilalanina (DOPA). La DOPA es el precursor de la dopaminala sustancia nigra es el nucleo positivo para ver la actividad dela TH como formadora de Dopamina.

En cada experimento se incluyeron secciones que contenían zonas (otros núcleos) diferentes a la zona de estudio de las cuales se conoce el carácter neuroquímico de sus neuronas. Se han usado estas estructuras como controles positivos adicionales. Las células grano del cerebelo fué nuestro control negativo.

1.8 Procedimiento de análisis de los cortes neurohistológicos

Densitometría:

Se utilizó un microscopio Leica DMRB, con contraste interferencial, equipado con una cámara de vídeo blanco y negro (Cohu CCD, Mode: 4912-5000), la cual va conectada a un ordenador provisto de una tarjeta digitalizadora. Las imágenes se capturaron y digitalizaron mediante el programa y tarjeta comercializado por “Scion NIH image”.

La luz del microscopio se ajustó en todos los casos a un valor fijo, tras capturar un campo con una cámara digital y medir el valor gris medio del mismo. La operación se realizó colocando un porta limpio y sin secciones en la platina.
Se siluetearon las secciones inmunoteñidas con una cámara clara y un objetivo de 40x a seco.

Se eligió una zona de la sección, dibujando las neuronas de esta zona con cámara clara y se capturó el campo seleccionado con la cámara de vídeo. De este modo se evitó analizar más de una vez la misma célula y a la vez, si esto fuera necesario, localizar topográficamente las células en la sección.
En los campos capturados y digitalizados mediante Scion Image se siluetearon las células con núcleo (aproximadamente 5-7 células por campo). La selección de partículas se pegó en un nuevo documento antes de cerrar el documento se anota el valor de gris medio y la desviación estándar de la pantalla (el programa "Scion NIH image" asigna automáticamente un valor de gris promedio de los píxeles de la pantalla dentro de las áreas silueteadas).

Seleccionamos como células control negativo, a las células granos del cerebelo que por su fisiología y por estudios farmacológicos y de hibridación in situ en teoría utilizan como único transmisor el glutamato.

Las células control, así seleccionadas se analizaron siguiendo el mismo proceso de captura y normalización que se utiliza para las inmunoteñidas (vi.). De este modo el valor que se utilizó como umbral para considerar una célula como inmunopositiva, es el valor gris medio de los somas del área control (células sustancia nigra) más dos veces su desviación estándar.

Normalmente él número de células necesarias para definir el umbral no tiene por qué superar las 25, obteniéndose datos significativos estadísticamente con 20. El umbral se fijó para cada experimento.

Para definir un rango especifico de 256 grises para las células analizadas, se tomóo como valores de referencia, el máximo de los obtenidos en las medidas, y como cero, el valor de gris medido en el hueco de un vaso sanguíneo. Los valores de gris de cada uno de los somas se trasladaron a este rango de grises.
En una hoja de cálculo (v.i.) se realizó el proceso final de normalización de los valores restando al valor de gris de cada célula, el valor de gris medio de todas

las pantallas capturadas en cada sección y dividiendo el resultado por la media de las desviaciones estándar de todas las pantallas.

Estos valores se analizaron estadísticamente y también se representaron gráficamente sobre las siluetas de las secciones, extrapolándolos a valores de color. Para ello se aplicó el siguiente proceder en un programa informático “ad hoc”.

En un dibujo de cámara clara del Area Tegmental Ventral, Sustancia Negra Pars Compacta, Sustancia Negra reticulata, se localizó el punto medio de cada campo analizado, asignándole valores de posición, bajo las coordenadas X,Y,Z.

Los valores X e Y nos dan la posición topográfica de cada campo dentro del dibujo de los núcleos en mención y están expresados en um, según la barra de calibración de cada sección. El eje Z representa el promedio de los valores de gris de las neuronas de un campo, normalizados a la sección.

Este último valor se representa en un intervalo de colores que van desde el Azul (valores de gris más bajos) al Rojo (valores de gris más altos) dando como resultado la asignación de un determinado color en el punto medio de un campo dado.

Los valores de gris intermedios entre los puntos centrales de cada campo se representan como gradientes de colores intermedios en el mismo rango.
Este método, tras aplicar el “programa de cálculos matemáticos MATLAB”, dio como resultado núcleos con gradientes de densidad de gris codificados para color que permiten visualizar con facilidad la posición de las neuronas y sus valores densitométricos (ver figura 4).

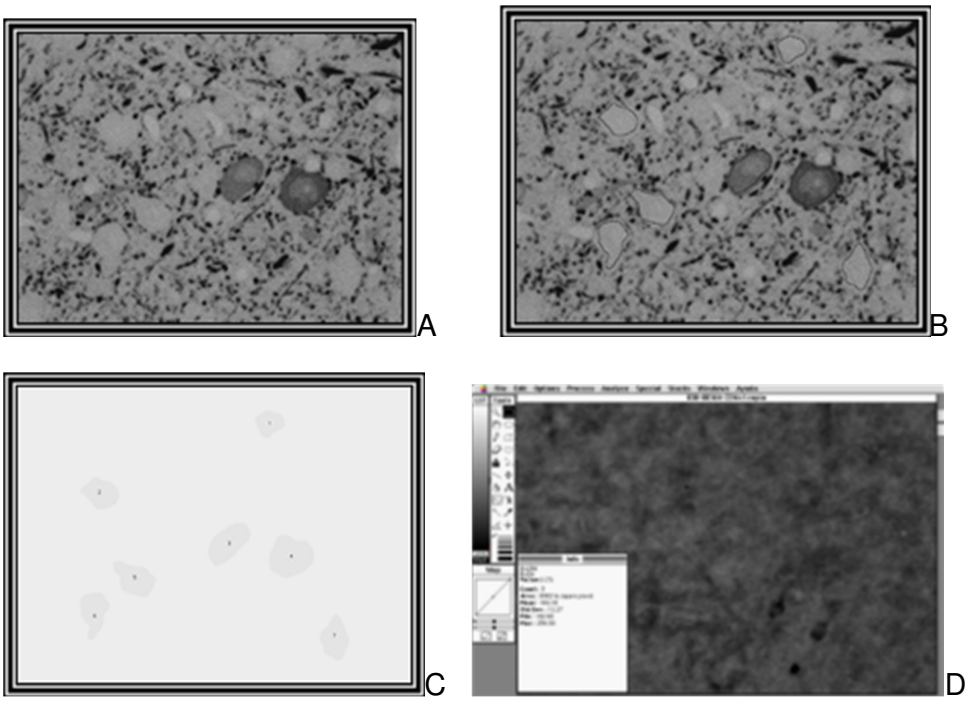


Fig. 4: Proceso de captura de neuronas para su análisis densitométrico:

A.- Imagen capturada con la cámara de video (X40 de objetivo)

B.- Delimitación de los perímetros de neuronas a analizar. Véase las 7 neuronas a analizar.

C.- La figura en B se duplica y con el programa Scion NIH Image se mide el valor de gris medio de las neuronas delimitadas, este a la vez, le asigna automáticamente una numeración de cada neurona analizada.

D.- Valoración densitométrica por Scion Image II, de campo fotográfico inmunoteñido para NPY.

Tipos neuronales:

Se estudiaron los nucleos, caudado putamen CPu, corteza cerebral CX e Hipocampo Hpp, , nucleos relacionados con la Sustancia Nigra, para el anticuerpo contra NPY.

Para la clasificación de un tipo de neurona dada como inmunoreactiva, se realizó una valoración por separado por parte, de tres diferentes observadores con amplio conocimiento de la neuroanatomia. Se establecieron criterios

previos comunes de evaluación (cuatro niveles de intensidad de marcado), que fueron los siguientes:

Nivel 1:+ Somas ligeramente más oscuros que la tinción de fondo de la reacción.
Nivel 2: ++ Somas identificables sobre la tinción de fondo de la reacción
Nivel 3:+++ Somas y dendritas marcados
Nivel 4:++++ Somas y dendritas fuertemente marcados.

Con las valoraciones sobre niveles de intensidad de inmunoreacción establecidos previamente, los observadores realizaron un estudio doble ciego y reflejaron sus datos en tablas. Las tablas se compararon entre sí para llegar a una valoración final de los tipos neuronales inmunoreactivos.

Análisis estadístico:
Para el análisis estadístico se utilizaron las pruebas no paramétricas de Mann-Whitney y de Kolmogorov-Smirnov para dos muestras.
El análisis de la varianza de los datos y la composición de las gráficas se realizó mediante Chi cuadrado y T student de doble cola.

RESULTADOS

INMUNOHISTOQUÍMICA PARA TH

Se han descrito muchas áreas inmunoreactivas para TH por inmunohistoquímica, especialmente en aquellos grupos neuronales implicados en la producción de neurotransmisores catecolaminérgicos (adrenalina,noradrenalina,dopamina).
Como se muestra en la figura 5, 6-OHDA modifica la expresión de las neuronas dopaminérgicas de la vía catecolaminérgica positivas para tirosina hidroxilasa (TH-ir) en los núcleos Área Tegmental Ventral (VTA), Sustancia Negra Pars Compacta (SNPc), Sustancia Negra reticulata (SNr).

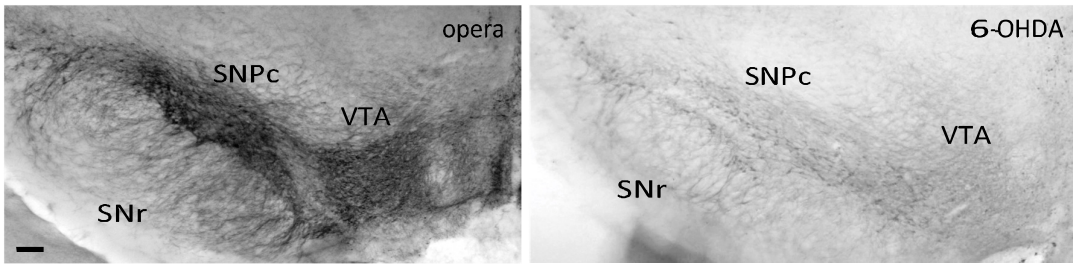


Fig. 5: Efecto de 6-OHDA sobre las neuronas dopaminérgicas en los núcleos: Tegmental Ventral (VTA), Sustancia Negra Pars Compacta (SNPc), Sustancia Negra reticulata (SNr).

En la microfotografía que se muestra a continuación (figura 6), para las neuronas de SNPc se detallan somas y fibras de las neuronas TH-ir por inmunohistoquímica simple. Somas y fibras muestran alta inmunoreactividad para TH con una disminución mayor a 70% de las neuronas dopaminérgicas, lo cual es requerido para obtener el modelo correcto de inducción a la enfermedad de Parkinson mediante la inyección de 6-OHDA en MFB.

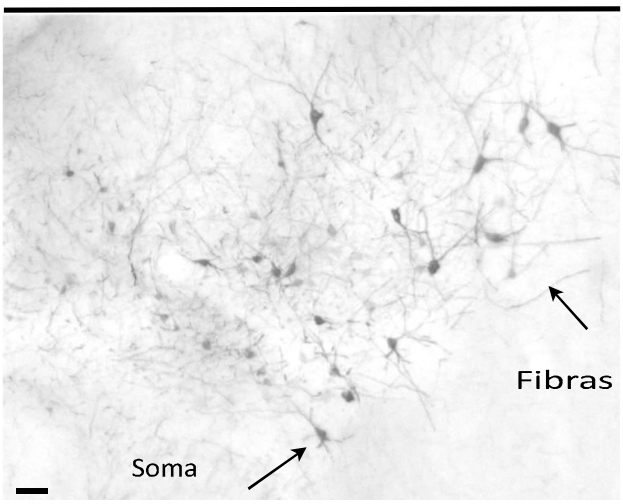


Fig. 6: Neuronas inmunopositivas para TH.

Análisis de expresión de neuronas inmunoreactivas para TH 15 días después de la cirugía estereotáxica.Las flechas muestran somas y fibras inmunoreactivas. Escala 400µm.

La presencia de NPY-ir en las áreas estudiadas, refieren densidades diferentes (los núcleos de la figura 5). Y en la figura 7, se muestra la densitometría para neuronas TH-positivas.

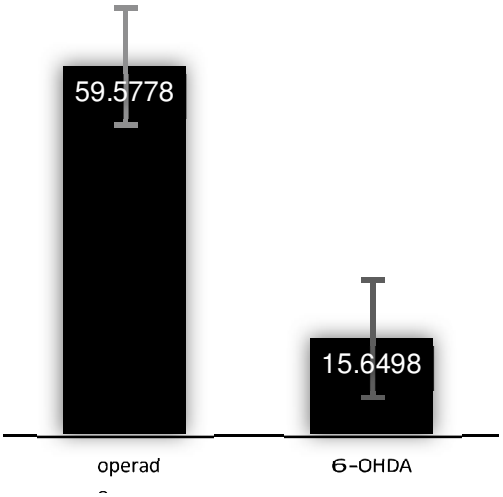


Fig. 7: Densitometría para neuronas TH-positivas en núcleos VTA, SNPc, SNr. Los valores son expresados como media SD ± S.E.M $P < 0.05$ comparado con el grupo control (ANOVA). Se utilizaron 5 animales por grupo.

INMUNOHISTOQUÍMICA PARA NPY

Dentro del grupo operado se observó mayor intensidad tanto en fibras y somas NPY-ir en corteza (Tabla 1); y en Caudado-putamen; en comparación con las demás áreas cerebrales del mismo grupo. En el caso del grupo 6OHDA se observó mayor intensidad tanto en corteza y en caudado-putamen en comparación con las demás áreas cerebrales dentro del mismo grupo.

Tabla 1: Somas y Fibras NPY-ir en grupos operado y operado 6-OHDA.

	operado		6-OHDA	
	Somas	Fibras	Somas	Fibras
	++	+	+++	+++
	+	+	++	++
CPu st	++	+	+++	+++
Cx ic	----	-----	++	++
Hipp	+	+	+	+

CONCLUSIONES

Muchos núcleos cerebrales en ratas inmunopositivos para NPY (NPY-ir) han sido descritos como sugiriendo posibles funciones del neuropéptido Y (NPY) en el cerebro. En nuestros estudios hemos identificado tanto fibras como somas NPY-ir en grupos operado y operado 6-OHDA en áreas cerebrales tales como Corteza cerebral, estriado terminal, Caudado-putamen, Cápsula interna e hipocampo (tabla 1).

Alternativamente, se encontró somas y fibras NPY-ir en núcleo talámico posteromedio ventral (VPM).

Se han observado fibras y somas inmunoreactivos tanto TH y NPY en algunas áreas de cerebros de ratas control e inducidas a Parkinson mediante la inyección de 6-OHDA.

CAPÍTULO 2

Parkinson, Redes Neuronales y Procesos Mentales

En esta parte de la investigación, nos interesa clarificar algunas de las interrogantes que siguen bajo debate, en lo referente a cómo se relacionan los fallos que se producen a nivel intracelular, presentados en el capítulo anterior, y los problemas cognitivos y de la conciencia que forman una parte de los síntomas en ciertos estadios del Parkinson.

Por ello, nos interesa plantear la discusión actual entre la fenoménica que se establece entre los niveles intercelulares y sistémico del funcionamiento del cerebro, y su relación con los fenómenos mentales y de la conciencia.
Es decir, se debe de considerar que el Parkinson es una enfermedad multinivel: que partiendo del nivel celular, se desarrolla posteriormente a nivel intercelular y sistémico (las redes cerebrales) -comprometiendo zonas del cerebro que estarían muy relacionados con los fenómenos mentales y de la conciencia-, y que terminarían con, ciertas disfunciones al nivel de las interrelaciones de la persona con su entorno social (esta última problemática será debidamente tratada en el próximo capítulo).

El concepto de redes cerebrales, puede ser definido sobre la base de la conectividad estructural, o, la interdependencia funcional. La organización de la red estructural del cerebro se basa en la relación anatómica de sus neuronas.
Aunque las poblaciones neuronales a lo largo de todo el cerebro, tienen una variedad de diferentes configuraciones de circuitos internos, pueden ser representados como nodos de una red, si tienen una organización estructural local única de identificación, o, un patrón de conectividad estructural a gran escala, o, un patrón de actividad funcional local que les permite distinguirse de sus vecinos.

La interdependencia funcional de los nodos de la red del cerebro se refiere a la actividad conjunta en diferentes estructuras cerebrales que es co-dependiente bajo la variación de un parámetro funcional o conductual.
Planteamos un estudio que desarrollará un enfoque específico en los sustratos neurales de los procesos mentales.

Nos ocuparemos de los problemas y aproximaciones que tratan sobre cómo las funciones cognitivas son producidas por los circuitos neuronales en el cerebro.
A continuación, se abordará la noción de redes cerebrales (o, redes neuronales), asociada a aquellas funciones y propiedades del cerebro que estarían fuertemente vinculadas con la ejecución de ciertos procesos mentales, que tendrían mucho que ver con la emergencia de la cognición.

2.1 Las redes neuronales y las funciones por defecto del cerebro

Uno de los grandes retos en las investigaciones en neurobiología y neurociencia, es identificar los sistemas del cerebro que son responsables de las actividades normales de la conciencia. De tal modo, que podamos tener la capacidad de detectar tempranamente los fallos de estos sistemas que estarían involucrados en el desarrollo de enfermedades como el Parkinson. En otras palabras, resulta de crucial importancia conocer dónde se producen en el cerebro, aquellos procesos que denominamos las funciones de la conciencia.
Sin embargo, una de las dificultades en la identificación de estos sistemas corticales, es distinguirlos de los muchos procesos cognitivos no-conscientes, atencionales y emocionales, que ocurren en apoyo de nuestras experiencias conscientes.

Respecto de esto último, en el pasado se han planteado algunas estrategias de diferenciación. Por ejemplo, un primer enfoque consiste en examinar a los pacientes con lesiones que les privan de algún aspecto de su experiencia consciente normal. Típico de este enfoque, es el estudio de los pacientes con "visión ciega" (blindsight), que es la capacidad de las personas -que están corticalmente ciegas debido a lesiones en la corteza estriada, también conocida como corteza visual primaria o V1-, para responder a los estímulos visuales que no ven conscientemente.

El cerebro contiene varios mecanismos implicados en la visión. Se consideran dos sistemas en el cerebro que se desarrollan en diferentes momentos. El primero que se desarrolla, es más primitivo y se asemeja al sistema visual de los animales, como en los peces y ranas. El segundo en evolucionar, es más

complejo y lo encontramos en todos los mamíferos. El segundo sistema, parece ser el que es responsable de nuestra capacidad de percibir el mundo que nos rodea. Por otra parte, el primer sistema, se dedica principalmente a controlar los movimientos oculares y orientar nuestra atención a los movimientos bruscos en nuestra periferia. Los pacientes con visión ciega tienen daños en el segundo sistema visual, "el sistema visual mamífero" (la corteza visual del cerebro, y algunas de las fibras nerviosas que llevan la información a la misma desde los ojos).

Este fenómeno muestra, cómo, después de que el sistema visual más complejo está dañado, la gente puede utilizar el sistema visual primitivo de su cerebro para guiar los movimientos de la mano hacia un objeto, a pesar de que ellos no pueden ver qué es lo que están alcanzando. Por lo tanto, la información visual puede controlar el comportamiento sin producir una sensación consciente. Esta capacidad de las personas con visión ciega para "ver objetos" de los que no están conscientes, sugiere que la conciencia no es una propiedad general de todas las partes del cerebro; sin embargo, sugiere que sólo ciertas partes del cerebro desempeñan un papel especial en la conciencia. La inferencia que se obtiene, es que el área del cerebro dañada por la lesión contribuye al contenido de la experiencia consciente ((Weiskrantz 1986, 1997).

Una segunda aproximación consiste en examinar las actividades normales en que la conciencia se suspende transitoriamente. Un experimento típico podría implicar un análisis de la supresión de la experiencia visual consciente durante los movimientos del ojo (conocida como “saccadic suppression”). Es el fenómeno en la percepción visual donde el cerebro bloquea selectivamente el procesamiento visual durante los movimientos del ojo, de tal manera, que ni el movimiento del ojo (y el posterior desenfoque de movimiento de la imagen), ni la brecha en la percepción visual, es perceptible para el espectador.

Durante este fenómeno, la percepción visual se suspende, aun cuando la información presentada durante este período de tiempo influencia el comportamiento. Mediante la identificación de los cambios en los circuitos neuronales que se producen, cuando una percepción visual consciente se suspende momentáneamente, uno esperaría identificar las regiones que

contribuyen a la experiencia consciente (Bridgeman et al. 1994, Crick & Koch 1998).

Un tercer enfoque, se ocupa de identificar los sistemas cerebrales que apoyan a una tarea cuando es novedosa y con esfuerzo, y comparar estos sistemas con los que trabajan cuando la tarea es de rutina y reflexiva.
Las exigencias de desempeño de esa tarea deben ser necesariamente suficientes para requerir la atención consciente para su ejecución inicial (Frith et al. 1991). Los sistemas cerebrales únicos para el nuevo estado, si se identifican por comparación con el estado experto, se convierten entonces en candidatos a ser los sistemas necesarios para la experiencia consciente. Debido a que las tareas que involucran las habilidades motoras, así como las cognitivas, se pueden transformar de tareas con esfuerzo de reflexión a tareas reflexivas, aparentemente sin esfuerzo, dentro de un corto período de tiempo (Petersen et al., 1998), se han empleado las técnicas de imágenes funcionales.

Actualmente sabemos que tales estudios de imágenes funcionales en seres humanos normales, que esta transformación se acompaña de cambios dramáticos en el circuito cerebral subyacente de que se trate con la tarea (Raichle et al. 1994). Estas transformaciones proporcionan importantes conocimientos sobre los sistemas cerebrales relacionados con elementos conscientes en la ejecución de tareas de aprendizaje.

Aun cuando estas tres aproximaciones nos han brindado ciertas clarificaciones sobre las regiones del cerebro involucradas en ciertas experiencias de la consciencia para determinadas tareas monitoreadas, existe una posible cuarta aproximación en donde lo fundamental sería tratar de observar y medir qué pasa en aquellas circunstancias en que no nos encontramos realizando ninguna tarea, ni ningún movimiento. ¿Qué sucede en nuestros cerebros cuando, por así decirlo, nuestra mente está descansando, y se pone a divagar?

Para empezar, la comprensión del cerebro hasta no hace mucho tiempo, llevaba aparejada la idea de que la mayoría de sus regiones permanecían bastante tranquilas hasta que se las requería para iniciar alguna tarea

específica. Sin embargo, las investigaciones recientes han puesto de manifiesto que el desarrollo de una tarea concreta implica un aumento del consumo energético del cerebro que supone menos del 5% de la actividad basal subyacente.

Por el contrario, la mayor parte de la actividad global (entre el 60 y el 80% de toda la energía que utiliza el cerebro) se despliega en circuitos que no tienen relación alguna con acontecimientos externos. Es decir, gran parte de la actividad cerebral se encarga de acontecimientos que tienen que ver con lo que podemos denominar como “vida interna del cerebro”.

Ahondando sobre esta vida interna del cerebro, se ha postulado que un conjunto de regiones del cerebro que colaboran entre sí y que podría ser responsable de gran parte de la actividad desarrollada mientras la mente está en reposo se la ha caracterizado como una red neuronal por defecto (pues es la región en que el cerebro se encuentra en actividad de manera basal).

Así, ciertas regiones del cerebro experimentan una disminución de su nivel de actividad, si se compara con el estado basal de reposo. Tales áreas (una parte de la corteza parietal medial y la corteza prefrontal medial), consideradas partes importantes de esta red neuronal por defecto, experimentan esa caída cuando otras áreas se ven implicadas en la ejecución de una tarea determinada.

De este modo, se ha postulado que dicha red neuronal por defecto estaría involucrada en cómo el cerebro organiza los recuerdos y diversos sistemas que necesitan cierta preparación ante futuros sucesos. Por lo tanto, si la red neuronal por defecto prepara al cerebro para la actividad consciente, las investigaciones sobre su comportamiento pueden revelar las claves para comprender la naturaleza de la experiencia consciente.

De igual modo, las alteraciones de la red neuronal por defecto podrían estar implicadas en enfermedades del deterioro de las funciones cerebrales.

Así, las investigaciones actuales se han encaminado hacia el estudio de la conectividad funcional de las redes neuronales; hacia la caracterización de los nodos que conforman a los circuitos neuronales.

Ello ha llevado a la postulación de una hipótesis acerca del funcionamiento de dichas redes en donde los «eventos sincrónicos de las redes» dependen de la existencia de patrones precisos de conectividad entre las neuronas.
En concreto, empleando técnicas de imagen muy precisas, se ha logrado reconstruir la dinámica temporal de la red y localizar «células nodo» capaces de orquestar la actividad oscilatoria de una red.

Estudios relativamente recientes de neuroimagen, han identificado consistentemente un conjunto de áreas cerebrales interconectadas, que se vuelven menos activas durante la atención que exigen las tareas cognitivas (Raichle et al. 2001).

La llamada "red en modo por defecto" (**Default Mode Network**), se postula que desempeña un papel fundamental en la organización del cerebro y sirve de soporte a una variedad de funciones auto-referenciales: la comprensión del estado mental de los demás, y la imaginación (Buckner et al. 2008), el procesamiento conceptual (Binder et al. 1999), e incluso, participa en el sustento de la conciencia (Horovitz et al. 2009).

La Red en Modo por Defecto (RMD), es un conjunto interconectado y anatómicamente definido de regiones del cerebro. La red está constituida por los siguientes centros altamente interconectados (hubs) y subsistemas.

Respecto de los hubs tenemos a los centros: corteza cingulada posterior, el precúneo, la corteza prefrontal medial y la circunvolución angular. Además, los subsistemas involucrados son: la unión temporoparietal, la corteza temporal lateral, el hipocampo, el parahipocampo, la corteza retrosplenial, el lóbulo parietal posterior inferior, entre los más importantes (Buckner et al. 2008, Broyd et al. 2009, Horn et al. 2013, Andrews-Hanna et al. 2014) (ver fig.1).

Aunque muchas de las funciones mencionadas se han considerado en el pasado patrimonio exclusivo de los seres humanos, resulta de interés científico que se hayan encontrado estructuras coherentes similares que existen en los monos macacos anestesiados y los chimpancés (Rilling et al. 2007, Vincent et al. 2007). Además, hay evidencias que dicha red existe también en el cerebro de ratas (Greicius et al., 2003, Hutchison et al., 2010, Liang et al., 2011). Por otro lado, se ha encontrado que las funciones de la red por defecto se interrumpen en frente de trastornos neuropsicológicos, tales como, la esquizofrenia, la enfermedad de Alzheimer y el autismo (Bluhm et al., 2007; Greicius et al., 2004; Kennedy & Courchesne, 2008).

Los datos sugieren que, a pesar de los caminos evolutivos distintos entre los roedores y el cerebro de los primates, una RMD intrínsecamente coherente y bien organizada parece ser una característica fundamental en el cerebro de los mamíferos, cuyas funciones principales podrían ser integrar la información sensorial y afectiva multimodal para guiar el comportamiento en previsión de los cambios y contingencias ambientales (Lu et al., 2012).

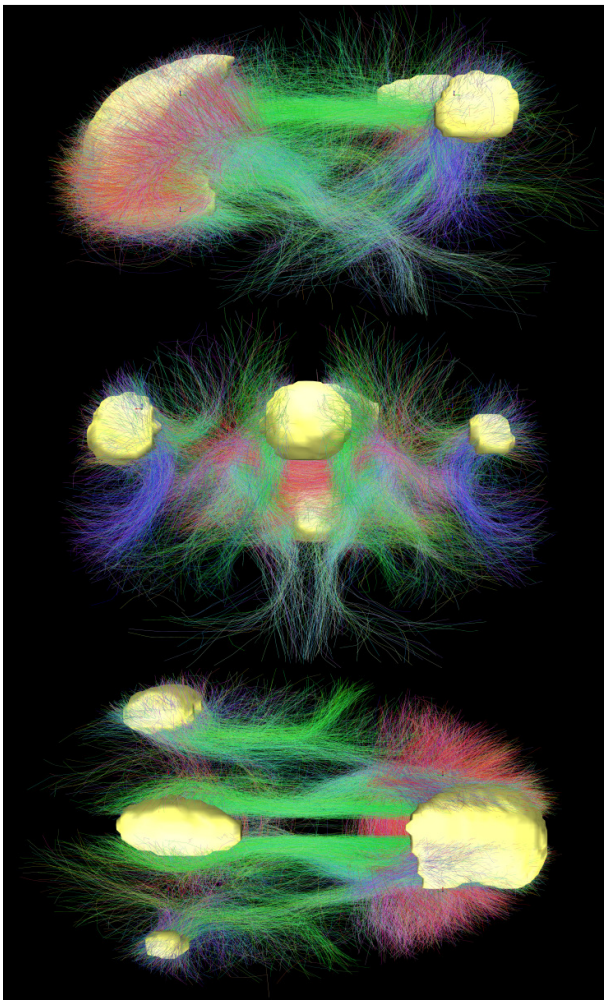


Figura 1 Conectividad de Red en Modo por Defecto: Se muestran las principales regiones de la "red en Modo por Defecto" (en amarillo) y la conectividad entre sus regiones (https://en.wikipedia.org/wiki/Default_mode_network)

El objetivo primario para que se desarrollen modelos de roedores en estos estudios, es para mejorar la comprensión de la biología subyacente de los diferentes trastornos cerebrales. Sin embargo, antes de interpretar los resultados de los modelos animales, como un aspecto de traducción para comprender las enfermedades humanas, un paso fundamental, es primero tener conocimiento de las similitudes y diferencias de los sistemas biológicos estudiados.

Es obvio que hay grandes diferencias en la estructura y función del cerebro humano y de roedor, sin embargo, los sistemas de neurotransmisores básicos y las conexiones estructurales y las proyecciones son las mismas (DeFelipe, 2011).

Sin embargo, nos parece importante destacar un estudio muy reciente que ha hecho suyo el sentir completo del párrafo anterior. Así, los investigadores han utilizado técnicas de última generación: la resonancia magnética funcional en estado de reposo (rsfMRI).

Dicha investigación se ha dedicado (como uno de sus objetivos), a encontrar las posibles similitudes y diferencias del RMD en humanos y ratas. El trabajo apoya la noción de que los seres humanos y las ratas tienen robustas y comunes redes cerebrales en estado de reposo y que el rsfMRI puede ser utilizado como una herramienta de traducción al validar modelos animales de trastornos cerebrales (Sierakowiak et al., 2015).

Estos estudios han revelado que la RMD de rata incluye regiones prefrontales corticales, corteza cingulada y la corteza retrospineal, que son similares a la RMD en humanos. Sin embargo, los núcleos septales, núcleos talámicos y regiones sensoriales de motor bilateral fueron involucrados en la rata, pero no en el ser humano. Por lo tanto, dicho análisis ha revelado que hay regiones del cerebro que están presentes en ambas especies, pero que también hay ejemplos de regiones que sólo se incluyen en la RMD de los humanos o de las ratas (Sierakowiak et al., 2015) (ver fig. 2 y 3).

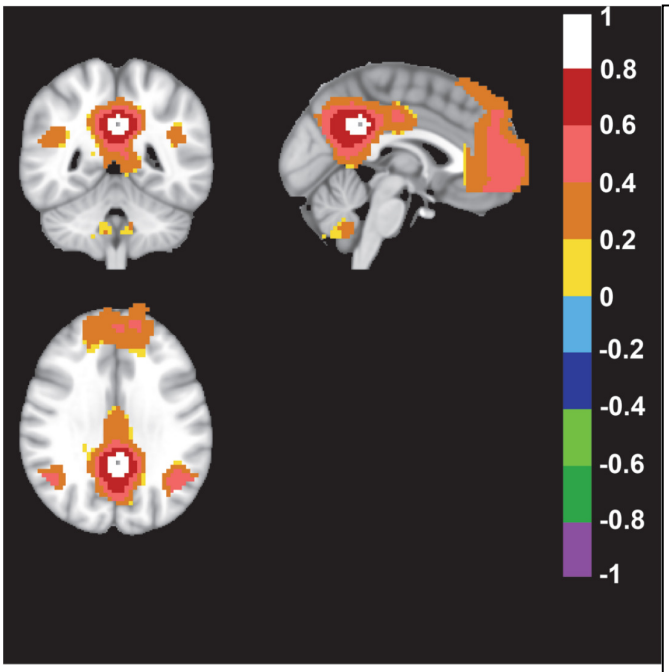


Fig. 2 RMD en humanos: La imagen superior izquierda muestra una imagen axial, la de arriba a la derecha una imagen sagital, y la imagen de abajo, una vista coronal del cerebro humano. En la vista axial, se observa el cingulado posterior, la corteza retroesplenial (el precúneo) y la corteza parietal bilateral. En la vista sagital y coronal se nota la corteza prefrontal anterior, la corteza parietal bilateral y cingulado posterior y la corteza retroesplenial (el precúneo). Esta figura se encuentra en Sierakowiak et al., 2015, 7/20.

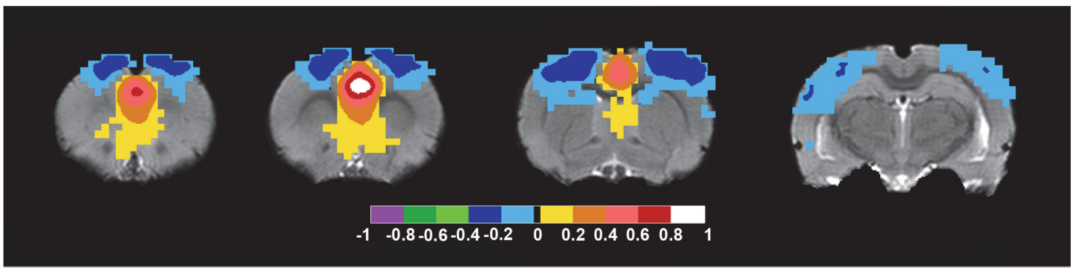


Fig. 3 RMD en ratas: Se muestran imágenes del cerebro de rata axiales que están ordenados de izquierda a derecha en un orden rostral a caudal. La imagen de la izquierda muestra la pre corteza límbica, la infra corteza límbica, la corteza orbital y la corteza cingulada. Las dos imágenes medias muestran la corteza cingulada y los núcleos septales. Esta figura se encuentra en Sierakowiak et al. 2015, 8/20.

2.2 Las redes neuronales y el control cognitivo

En el contexto de las funciones cerebrales superiores, se tiene la convicción que los sistemas neurales alteran su dinámica para satisfacer las demandas de las múltiples tareas que ejecutamos, permitiendo a los seres humanos realizar la miríada de funciones cognitivas complejas necesarias para la vida cotidiana. A estas capacidades se les denomina el control cognitivo (Botvinick & Cohen, 2014; Corbetta & Shulman, 2002; Power et al., 2013).

Este control cognitivo incluye: (a) la capacidad de vincular múltiples fuentes de información para resolver problemas; (b) la recuperación selectiva de la información de la memoria; (c) la inhibición de las respuestas de comportamiento inapropiado y (d) selección activa (y mantenimiento) de la información conductualmente relevante.

Recientes análisis de neuroimagen funcional, apuntan a que las funciones de control dependen de cambios transitorios en las pautas de cooperación y competencia entre los sistemas neuronales distribuidos. Estos estudios, han revelado que no son las cortezas frontales las que estarían implicadas en el control cognitivo, en lugar de ello, estaría distribuido entre ciertos sistemas neurales, incluyendo a las regiones asociadas a la atención, a la red en modo por defecto, a la red fronto-parietal y a la red cíngulo opercular (Cocchi et al., 2013).

En la actualidad, existe una creciente evidencia que sugiere que los cambios en la actividad regional pueden alterar la dinámica de la función cerebral. En donde, los resultados han sido obtenidos utilizando imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI) o electroencefalografía (Fox et al., 2012; Ruiz et al., 2014).

La controlabilidad de redes se refiere a la capacidad del control estructural de una red. La controlabilidad describe nuestra capacidad para guiar a un sistema

dinámico de cualquier estado inicial, a cualquier estado final deseado en un tiempo finito, con una elección adecuada de los inputs. Esta definición concuerda bien con nuestra noción intuitiva de control. Por otro lado, la capacidad de control de las redes complejas generales dirigidas y ponderadas, ha sido recientemente objeto de intenso estudio por una serie de grupos, en todo el mundo (Liu et al. 2011). Por ejemplo, en una investigación se utilizan los avances teóricos recientes en la teoría de control de red, para investigar cómo las características estructurales de una red cerebral determinan las características temporales de la dinámica cognitiva (ver fig. 4).

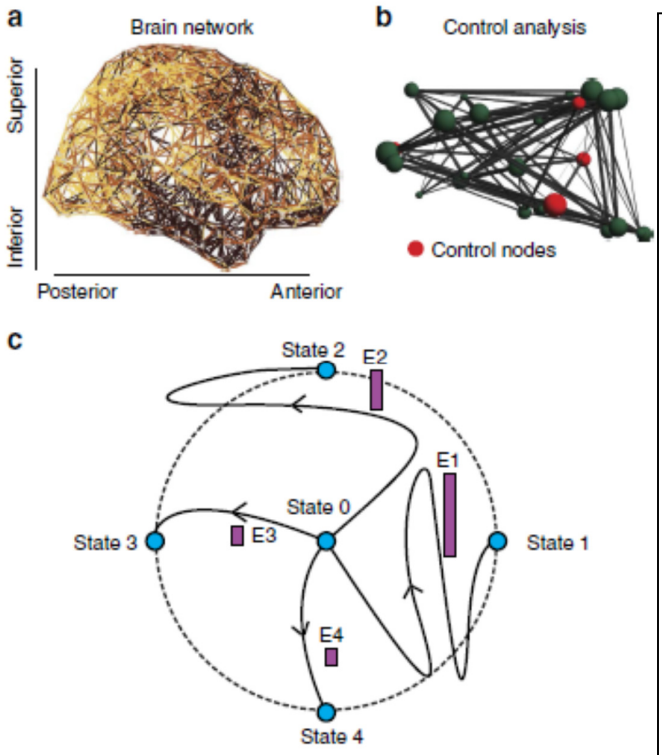


Fig 4 Características temporales de la dinámica cognitiva: Desde las redes cerebrales ponderadas (a), calculamos los puntos de control (b) cuya actividad regional a gran escala puede mover el cerebro en nuevas trayectorias que atraviesan diversas funciones cognitivas (c). En C, se muestra el estado original del sistema (estado 0), así como cuatro estados posibles (indicado por los círculos azules) que son equidistantes de un estado 0 en el espacio de estado (indicado por la línea circular negro), y que se puede llegar por trayectorias que son más o menos energéticamente costosas (indicado por la altura de las barras de color púrpura). Sacado de Gu et al. 2015.

El cerebro es un sistema dinámico en red, que se mueve entre diversos estados cognitivos para permitir los comportamientos complejos. Los principios fundamentales que limitan estas trayectorias permanecen aún sin conocer.

Se sabe que las áreas conectadas débilmente, predominantemente localizados en los sistemas de control cognitivos, podrían facilitar el movimiento del cerebro hacia estados difíciles de alcanzar. Las áreas en el límite entre las

comunidades de redes, principalmente ubicados en los sistemas de control de la atención, se postulan que pueden facilitar la integración o segregación de los sistemas cognitivos.

Estas investigaciones sugieren que las diferencias estructurales de la red entre el sistema en modo por defecto, el sistema del control cognitivo y el sistema de control de la atención, dictarían sus distintivos roles funcionales en la red cerebral (Gu et al., 2015).

CONCLUSIONES

El hecho de encontrar un alto cambio en la densidad neuronal (casi un 75%), nos estaría indicando que quizá habría un cierto compromiso de la red neuronal por defecto. Hemos señalado que dicha red neuronal por defecto estaría involucrada en cómo el cerebro organiza los recuerdos y diversos sistemas que necesitan cierta preparación ante los futuros sucesos.

De este modo, si la red neuronal por defecto prepara al cerebro para la actividad consciente, es posible postular que el neuropéptido Y (NPY) estaría involucrado, de alguna manera, con esta red neuronal por defecto y que, además, estaría jugando algún rol (por más pequeño que fuera) con los nodos que conforman a los circuitos neuronales que estarían participando en el desarrollo de la experiencia consciente.

CAPÍTULO 3

Los niveles personal y social del Parkinson

El clima científico actual está enfocado en la biología celular, o los genes que las células contienen o activan. Sabemos más acerca de las células que conforman al cerebro, y como estas se conectan o modifican sus conexiones. Los recientes avances relacionados con nuestro entendimiento del genoma han tenido efectos en la investigación sobre el cerebro así como en casi como todos los demás campos. Estos son tiempos desafiantes para la biología molecular, celular y la genética. Aun así, el salto hacia la función del cerebro como órgano aún parece insuperable. Razón por la cual la psiquiatría seguirá siendo de la manera en la que es ahora, por algún tiempo al menos (Herbert, 2015).

El problema de una visión mecanicista y reduccionista de las enfermedades mentales es que dichas concepciones no contribuyen a su entendimiento total e integrado. Es por ello que queremos brindar un panorama global desde el punto de vista psicológico y social de esta enfermedad.

Además, quisiéramos elaborar sobre la importancia de la investigación interdisciplinaria de la que se ha mencionado al inicio del informe. Una disciplina puede definirse convenientemente como cualquier dominio aislado comparativamente autónomo de la experiencia humana que posee su propia comunidad de expertos. La interdisciplinariedad es mejor vista como el agrupamiento de distintos componentes de dos o más disciplinas. En el discurso académico, la interdisciplinariedad típicamente se aplica a cuatro ámbitos: conocimiento, investigación, educación y teoría. La investigación interdisciplinaria combina componentes de dos o más disciplinas en la búsqueda o creación de nuevo conocimientos (Nissani 1997).

Un enfoque interdisciplinario debería llevar a la gente a hacer preguntas y a resolver problemas nunca antes vistos. Pero, también puede abordar antiguos problemas, especialmente aquellos que han sido reacios a ceder a enfoques convencionales (Nature, 2015) como sería el caso del tratamiento de la enfermedad de Parkinson, ya que esta y muchas otras enfermedades tiene una repercusión en diversos aspectos de las personas no sólo a nivel físico, sino también psicológico y social, ya que el ser humano abarca muchos aspectos, contextos y realidades a medida que se desarrolla, las enfermedades cambian

e interactúan con dichos aspectos. Por ello, es de suma importancia mantener una perspectiva amplia acerca de la compleja realidad humana, en particular en la realidad de la enfermedad humana.

Además, la comunicación interdisciplinar es crucial. El uso variado del lenguaje entre disciplinas podría ser visto como un problema superficial, pero es uno que deber ser resuelto, por el contrario, los malentendidos socavarán las bases del proyecto. Debe haber una jerarquía, o al menos, una jerarquía percibida. Todo lo involucrado debe tener la confianza de que los colegas de otras disciplinas usen el mismo rigor académico y nivel científico, aun así, los métodos en campos rivales parecieran ajenos. Es obvio, que tomará tiempo ver el valor de estos enfoques. Ello requiere de una actitud de apertura ante la realidad y los métodos para aprehenderla (Nature, 2015).

Para poder ejemplificar esta perspectiva interdisciplinaria, supongamos que quisiéremos entender la Guerra Fría. Supongamos, además, que estuviéramos interesados en sondear el conflicto entero, no meramente uno u otro de sus aspectos. Varios años y varios estantes después, podríamos darnos cuenta que muchos de los expertos no han podido llegar a un retrato autónomo e integrado de este hecho, porque han examinado este tema desde una única perspectiva disciplinaria. En un enfoque integrado, podríamos concluir, carga con una gran promesa de traernos cerca de un verdadero alcance de este tema tan complejo. Sin embargo, en esta instancia particular, podríamos comenzar con historia. En cierto punto en nuestra ambiciosa tarea, podríamos darnos cuenta que la historia queda corta, y que las políticas de ambos, Estados Unidos de América y Rusia son un tema importante. Y en otro punto podríamos concluir que las teorías y prácticas del totalitarismo y la democracia deberían entenderse también. Podríamos prolongar este proceso ramificado por un tiempo, hasta que una imagen coherentemente razonable emerja. Si preservamos, nuestra amplia síntesis podríamos encarnar un profundo entendimiento que ningún enfoque unidisciplinario podría reunir (Nissani, 1997). Así como la Guerra Fría podría considerarse como un fenómeno complejo, asimismo la enfermedad de Parkinson, como otras enfermedades degenerativas, también lo es. Por ende, es importante poder concebirla desde

esta perspectiva para poder tener un alcance real que nos permita poder estudiarla en sus diversos aspectos tanto a nivel descrito en forma orgánica como en los niveles más altos de organización de la materia, es decir a nivel social.

3.1 El Nivel Personal

3.1.1. El yo y la enfermedad del Parkinson

Concebir a la enfermedad de Parkinson desde el punto fisiológico es realmente importante para poder tratar su sintomatología, descubrir el funcionamiento de ésta y desentrañar sus causas (como se ha visto en el capítulo anterior). Sin embargo, es igual de importante considerar su impacto desde un punto de vista personal y psicológico. Ya que nuestros cuerpos son materia, nosotros estamos hechos de percepciones—"percepciones", tal como D. Hume lo concibe en el *Tratado* para referirse a estados mentales y eventos en general. Asimismo, nuestras partes no sólo son órganos o células o átomos, también lo son las memorias, deseos y sueños (Olson, 2007).

Dentro de los síntomas psicológicos o mentales de esta enfermedad se encuentra la demencia. Los estudios sugieren que entre el 40 y el 80 por ciento de los pacientes de Parkinson acaban por desarrollar demencia, más de seis veces lo que cabe esperar en la población general. Este tipo de demencia altera sobre todo las funciones ejecutivas, vale decir, la capacidad de concentrar la atención, de tomar decisiones coherentes, planificar y organizar, sin olvidar la de visualizar la disposición de objetos en el espacio. La depresión es parte de la sintomatología y se relaciona con el nivel de serotonina dentro del cerebro. Esto nos lleva a pensar que el Parkinson también podría considerarse una "enfermedad mental" ya que, muchos de sus síntomas afectan la calidad y salud mental del afectado, así como su desarrollo psicosocial.

La persona que sufre de Parkinson se verá afectada en dos maneras. La primera, de manera individual, es decir en su integridad como persona como "yo", en términos de identidad, perderá el sentido de la vida, todo lo que ha

venido construyendo a lo largo de su existencia en cuanto a información y habilidades cognitivas y motoras se irá degenerando hasta crear dependencia. Con identidad, o el concepto de "yo", nos referimos a las características propias de la personalidad de un individuo que consideran la idea de un sí mismo integrado. La idea de identidad se ha definido de diversas maneras, la perspectiva más popular acerca de nuestra identidad través del tiempo es la que consiste en cierto continuo psicológico: tú eres, necesariamente, ese ser futuro que en cierto sentido hereda tus características mentales –personalidad, creencias, memorias y demás—de ti, y tú eres ese ser pasado que ha heredado ya características mentales. Hay una disputa acerca de la precisa naturaleza de esta herencia (Olson, 2007). Pero, en todo caso, el continuum se ve influido por el devenir. En este punto también quisiéramos postular que el autoconcepto se ve afectado y gira entorno no sólo la herencia genética sino la interacción con el ambiente que va creando patrones y esquemas mentales que luego van a pasar a configurar la identidad. Esencialmente, el autoconcepto de la persona se vería afectado en este contexto, por lo tanto, eso podría impedir que el individuo regule su conducta y afectos de manera coherente. Además, su motivación podría disminuir al ser esta enfermedad degenerativa: de hecho, el afectado es consiente que sus síntomas posiblemente sólo empeorarán o se mantendrán. Esto sucede porque no sólo la parte motora se ve involucrada sino aspectos cognitivos esenciales para la configuración de la personalidad e identidad personal como es la memoria.

La memoria se concibe en dos aspectos, la declarativa, que almacena experiencias y los conocimientos sobre el mundo en general, y la memoria procedimental, que nos permite recordar secuencias de movimiento de todo tiempo como lo son el montar bicicleta o el poder atarse las zapatillas. Además, la historia personal, que en la etapa del desarrollo psicosocial de la adultez y adultez tardía es fundamental contar con nuestros recuerdos para mantener la salud mental y en general una vida digna. Uno de los aspectos que afecta el Parkinson en nuestra salud mental está asociado a lo que Beck denomina "esquemas mentales". Para Beck, uno de los pioneros de la psicoterapia cognitiva, los esquemas son patrones cognitivos relativamente estables que constituyen la base de la regularidad de las interpretaciones de la realidad. Las

personas utilizan sus esquemas para localizar, codificar, diferenciar y atribuir significaciones a los datos del mundo, a su vez posibilitan identificar y seleccionar y seleccionar las estrategias de afrontamiento llevadas a la acción (Camacho, 2003). Definitivamente este esquema cognitivo se vería afectado por la enfermedad, esto dentro de un plano individual, afectando severamente el autoconcepto.

3.1.2. La relación paciente-terapeuta

Es importante, asimismo, recalcar el rol de la calidad en la relación terapeuta-paciente para el tratamiento de esta enfermedad, ya que repercute directamente en cómo el paciente enfrenta en un nivel personal su sintomatología y su condición, y en cómo percibe su capacidad de mejoría. Investigaciones llevadas a cabo por Kelley y colegas, mostraron que la calidad de las relaciones entre el paciente y el clínico en términos de medidas de empatía, comunicación y mejor atención hacia la comunicación no verbal, juegan un pequeño pero significativo rol en los resultados en cuanto a salud para distintas condiciones. Los hallazgos sugieren que un enfoque en las relaciones humanas siempre debería estar en el primer plano del tratamiento, dice Kelly y además menciona que el efecto placebo, es en realidad un efecto de la relación entre el clínico y el paciente donde estos de ayudan a creer que el tratamiento funcionará.

Reconocemos a la enfermedad de Parkinson como una enfermedad crónica, degenerativa, que requiere un tratamiento de larga duración, por lo que resulta de suma importancia el vínculo que esta persona desarrolle con su médico y terapeuta para la efectividad del tratamiento. Para ello queremos señalar el enfoque centrado en el paciente, en el que se busca entrar en su mundo para comprender la vivencia subjetiva de la enfermedad en un marco más amplio. Es relevante integrar al paciente como un participante activo, valorado y esencial para el proceso de cambio. La manera en que se prescribe es tan valiosa como l tratamiento mismo. El objetivo, en consecuencia, es enseñar al paciente a seguirlo, las recaídas no deben ser vistas como fracasos sino como una oportunidad más de aprender (Faccini, 2004).

Se acepta que sólo a partir del momento en que el paciente tome la decisión y el compromiso de iniciar un proceso terapéutico y se haga responsable del mismo, podrá llevar a cabo acciones realistas que produzcan cambios en su conducta y no quedar atrapado en la repetición. Este consiste en entrar activamente en el mundo del sujeto para entender la experiencia única de su enfermedad. Este tipo de abordaje plantea un marco más amplio que el modelo tradicional y resulta más satisfactorio y respetuoso del individuo, lo que lo vuelve más efectivo (Stewart, 1995).

La idea de enfermedad como alteración de la salud, por un lado, y la experiencia subjetiva de la misma, por el otro, necesitan ser integradas como un entendimiento global de la persona en un contexto más amplio. Por esto es importante preguntarse no sólo ¿qué enfermedad tiene el paciente? en cuanto a gravedad, prognosis, etc., sino también encontrar respuestas para las siguientes preguntas: 1.¿Qué paciente tiene esa enfermedad?; 2.¿Qué tipo de personalidad presenta (emprendedor, facilitador, controlador o analizador)?; 3.¿Qué significado tiene esa enfermedad para ese paciente?; 4.¿Qué ideas preconcebidas tiene acerca de su enfermedad?; 5. ¿En qué etapa de aceptación de la enfermedad está (impacto, negación, rebeldía, negociación, reflexión, aceptación, pseudoaceptación, resignación)?; 6.¿Cómo la enfermedad afecta su vida de relación? ¿Llega por motu proprio?; 7. ¿Qué significado tiene esa enfermedad para ese paciente en su contexto sociocultural?; 8.¿Qué grado de estigmatización tiene la enfermedad en su medio?; 9.¿Qué red vincular de sostén tiene?; y, finalmente, 10. ¿Qué espera del profesional? (Zukerfeld, 1999).

Por tanto, es importante señalar que la alianza terapéutica no es un simple prerrequisito, sino la esencia del proceso de cambio. En el corazón de dicho concepto está la noción de colaboración de Horvath, o alianza de trabajo. Esto implica: trabajar “con” y “junto” al paciente donde éste sea un participante activo, valorado y respetado, integrarlo como parte esencial del tratamiento y alentarlo para que lo sostenga día a día, meses y años. Un tratamiento efectivo

de las enfermedades crónicas requiere un equipo de participantes activos en donde el paciente sea el miembro más importante (Faccini, 2004).

3.1.3. El efecto placebo-hallazgos personales

Haciendo un paralelo con la importancia de la creencia del paciente de que el tratamiento y dentro de este, la medicación que se le suministre va ser efectiva y capaz de impactar en la mejora de su sintomatología queremos señalar la importancia del efecto placebo enmarcada dentro de esta concepción interdisciplinaria de la enfermedad de Parkinson.

El efecto, el placebo por décadas ha sido visto como “poco interesante fuente de ruido que interfiere con el estudio farmacológico”, según Bret Rutherford, de la universidad de Columbia. Sin embargo, hoy en día la ciencia está estudiando los placebos como un fenómeno psicobiológico y la respuesta al placebo como parte potencialmente importante del éxito de muchos tratamientos médicos. Los investigadores están usando evaluaciones psicológicas, escaneos cerebrales y genotipado para tener un mejor entendimiento acerca de cómo funcionan las respuestas al placebo y para identificar quienes son los que más propensos a responder a este (Lu, 2015).

Esta clase de investigaciones amplían el panorama y podrían cubrir ciertas brechas en el conocimiento y no sólo de ello, sino valorar la importancia del efecto de las creencias de las personas. Es necesario tanto en psicología, como en psiquiatría, que el paciente pueda creer que va a mejorar; esto repercute directamente en la motivación y en la calidad del tratamiento. Por ejemplo, un meta-análisis de 25 estudios en neuroimagen sobre dolor y placebo conducido por Wagner y Atlas del National Center for Complementary and Integrative Health (NCCIH) que depende de los Institutos Nacionales de Salud de los EEUU, encontraron que las personas que tomaban placebos y esperaban tener una reducción del dolor tuvieron menos actividad cerebral en

las regiones usualmente asociadas con el procesamiento del dolor, incluyendo el cíngulo dorsal anterior, el tálamo y la ínsula (Atlas & Wagner, 2014).

En cuanto a los mecanismos involucrados en el funcionamiento del placebo, la investigación sugiere que estos tienen grandes efectos en los sistemas neurales involucrados, además se relacionan con el procesamiento de la búsqueda de recompensa, la motivación y la emoción. El placebo parece ser particularmente efectivo en pacientes con depresión, enfermedad de Parkinson y dolor. Estas tres condiciones, dice Atlas, involucra el neurotransmisor dopamina (Lu, 2015).

En un estudio de pacientes con enfermedad de Parkinson, Wagner y sus colegas encontraron que el simple hecho de esperar a la medicación altera la actividad cerebral en el estriado y en el córtex prefrontal vetromedial—áreas cerebrales asociadas con el aprendizaje de la recompensa—en maneras similares a la actual medicación dopaminérgica (Nature Neuroscience, 2014).

3.2 El Nivel Social

Dentro de nuestra investigación queremos enmarcar a la enfermedad de Parkinson dentro de estas diversas implicancias, ya que la psiquiatría posee diversas limitaciones para poder lidiar con las enfermedades mentales, esto se debe a varios factores. En primer lugar, el hecho de que la psiquiatría trata las enfermedades mentales basándose en una clasificación de síntomas. No existen pruebas objetivas, no hay escaneos ni pruebas de sangre para poder determinar si alguien sufre o no de cierta anomalía a nivel mental. La psiquiatría hace su mayor intento para hacer uso de los síntomas de manera fiable y consistente, con cierto éxito (Herbert 2015). La American Psychiatric Association ha desarrollado una clasificación formal de síntomas, que ha sido de mucha utilidad para muchas psiquiatras en distintos centros médicos alrededor del mundo para poder diagnosticar esa clase de enfermedades de la misma forma que las demás. Sin embargo, dentro de este sistema resaltan dos problemas principales: cada enfermedad tiene un amplio y variable número de síntomas que se le pueden atribuir, ello puede encubrir distintos desordenes dentro de cada categoría y los síntomas de cada categoría al mismo tiempo se

traslapan y esto nubla la distinción entre diagnósticos (Herbert, 2015). Por lo que no habría una clasificación precisa acorde con para paciente, al parecer el diagnóstico varia de una persona a otra, y ello no solo depende de las características biológicas, sino además de su historia de vida y su entorno social.

Por otro lado, el cerebro difiere entre las personas, por ende, un desorden dado en el cerebro puede desencadenar diferentes síntomas dependiendo del individuo (Herbert, 2015). Sólo tenemos una idea de que partes del cerebro son las encargadas de ciertos procesos o de por ejemplo qué partes del cerebro serían disfuncionales frente a la enfermedad, pero el hecho de que no poseamos la información precisa acerca de qué es lo distingue un cerebro patológico y uno sano, conlleva a que por ahora no contamos con el conocimiento de cómo hacer un diagnóstico realmente preciso. El único conocimiento que necesitamos para hacer un diagnóstico pertinente y preciso es el de saber cómo es cerebro genera la conciencia.

Para poder enmarcar a la enfermedad de Parkinson en aspectos sociales y con un análisis aún más profundo, hemos realizado un paralelo basado en la perspectiva social bajo la tesis de John Searle en su libro *La construcción de la realidad social*. Searle busca resolver la interrogante de que hay cosas que existen sólo debido al consenso humano, que existen sólo basados en nuestra creencia de que existen. Para explicar esta premisa es necesario diferenciar dos clases de hechos. En primer lugar, los “hechos brutos” que existen independientemente del consenso humano, Searle pone como ejemplo, las montañas o las moléculas que existen y seguirán existiendo aun así nuestra especie caiga en la extinción. Pero, los hechos que vamos a analizar en esta ocasión son los llamados “hechos institucionales” que, por el contrario, dependen de y requieren del consenso humano. Por lo tanto, la verdadera pregunta a la que Searle apunta es ¿Cómo es que los “hechos institucionales” son posibles?

El problema es de gran complejidad debido a que el común de la gente no está familiarizado con la metafísica de las relaciones sociales ordinarias. Por

ejemplo,al comprar un celular no pensamos en que estamos adquiriendo una aleación de metales y plástico, con un sistema de procesamiento de información y un microchip hecho de sílice y además que la pantalla está hecha de cristal líquido. Estamos acostumbrados a pensar en términos de su funcionalidad, es decir que vamos a poder hacer llamadas, mandar mensajes, navegar en la web, etc. Cada acto social y con esto me refiero a la mayoría de acciones que realizamos a diario, están cargadas y son en su mayoría hechos institucionales, con una metafísica bastante compleja. Desde el DNI, tarjetas de crédito, dinero, y demás objetos que nos permiten desenvolvernos en esta sociedad. Esto es posible gracias a la invisible estructura de la realidad social. Desde pequeños aprendemos a percibir y usar diversos objetos de nuestro entorno, porque la realidad está creada en ese sentido por nosotros y para nuestros propósitos (Searle, 1995). Sin embargo, nadie nos enseña a pensar términos de la ontología de las cosas, por el contrario, hemos aprendido a configurar nuestra realidad en términos de funcionalidad y la funcionalidad es una cualidad subjetiva de las propiedades mentales, ya que involucra intencionalidad, la capacidad de la mente de representar objetos y estados de las cosas en el mundo diferentes a sí. Por ejemplo, tenemos un objeto en frente, un microscopio. Sabemos que por consenso el microscopio cumple la función de permitir visualizar objetos de pequeñas dimensiones. Sin embargo, un científico que se encuentra realizando un ensayo y una fuerte corriente de aire ingresa por su ventana puede decidir usar este mismo objeto (microscopio) en esta ocasión como un pisapapeles, porque en este caso tiene le intención de darle este uso.

Por estos motivos, es necesario ahondar en los conceptos de objetividad ontológica y subjetividad ontológica, ya que son términos cruciales en nuestra discusión. Para ellos Searle hace otra distinción, en primer lugar, postula los “hechos objetivos” que serán juzgados en términos de veracidad o falsedad independientes de la actitud o sentimientos de cualquiera. Estos hechos poseen características intrínsecas a la naturaleza independientemente de la existencia humana. Por ejemplo, el hecho de que las hojas contienen clorofila, es un hecho objetivo. En segundo lugar, los “hechos subjetivos” no pueden ser juzgados objetivamente ya que, su veracidad o falsedad dependen de los

diversos puntos de vista de los que oyen o realizan el juicio y poseen características relativas a la intencionalidad de sus usuarios u observadores. Como por ejemplo la afirmación de que “la naturaleza me transmite tranquilidad”. Esta distinción es necesaria porque resulta que la realidad social en general, sólo se puede entender a la luz de dicha diferenciación (Searle, 1995).

Otros elementos para dar cuenta de la realidad social son: la asignación de la función, la intencionalidad colectiva y las reglas constitutivas. Comenzaremos con la asignación o imposición de la función. La imposición de la función está referida a la capacidad innata de los seres humanos como proceso evolutivo de poder imponerle funciones a los objetos, esto requiere de una intencionalidad que al mismo tiempo involucra dar un significado, simbolismo. Por ejemplo, un objeto tan simple como un frasco de vidrio, puede ser usado como vaso, como un portalapiceros, como un pisapapeles, hasta puede ser roto y usado como un arma, todo ello dependerá de la intencionalidad de la persona y del propósito inmediato que esta requiera. Lo importante en este punto es que las funciones no son nunca intrínsecas, son asignadas desde fuera por los observadores y usuarios conscientes (Searle, 1995). Pero, muchas veces son asignadas de manera inconsciente y de alguna manera son “invisibles”, ya que vamos asignando momento a momento con cada acción vamos asumiendo e imponiendo diversos significados a los diversos fenómenos de la realidad. También se debe señalar que las “funciones” se definen en término de causas, en este caso no habría nada intrínsecamente funcional acerca de las funciones, sino que tan sólo serían causas como cualquier otra.

Otro elemento crucial para poder dar cuenta de la realidad social es la intencionalidad colectiva, y es que muchas especies de animales y en especial los humanos poseemos la capacidad de cooperar, sincronizar y compartir nuestra intencionalidad en estados como creencias, actos, deseos e intenciones (Searle 1995). Estamos constantemente formando grupos, asociaciones, bandos, con un propósito en común. La intencionalidad colectiva es un fenómeno primitivo y biológico que no puede ser reducido ni eliminado, tampoco reducido a la intencionalidad personal. Pensemos por ejemplo cuanta

gente se encuentra en desacuerdo de manera individual con el manejo político de su país, sin embargo, el colectivo votó por aquel gobernante o parlamento y no hay marcha atrás. No sólo eso sino, muchas religiones obtuvieron poder y siguen vigentes gracias a este fenómeno, aun así, hallan hechos reales que comprueben que ciertos supuestos que la sostienen son falsos, lo que realmente sostiene el dogma es la intencionalidad colectiva. Por ende, todo hecho social requiere de la intencionalidad colectiva. La intencionalidad que tiene cada persona puede verse traducida bajo la forma "tenemos la intención" (Searle, 1995). Cualquier hecho que involucre intencionalidad colectiva es un hecho social. Además, la imposición colectiva de funciones en los objetos no se pueden dar solamente en virtud de las características intrínsecas del objeto, sino que únicamente se da en virtud del acuerdo colectivo o la aceptación y ello es un elemento crucial en la creación de los hechos institucionales. Por ejemplo, las líneas peatonales han adquirido un significado colectivo que indica que las personas al cruzar la pista deben ir por esa vía y los automóviles deben de parar cuando un peatón las cruce. Intrínsecamente es solo pintura en el piso, pero por medio de la intencionalidad colectiva se ha acordado socialmente que estas cumplen tal función y así se da con distintos elementos que conforman la realidad social. El elemento clave en la transformación de intencionalidad colectiva hacia los hechos institucionales recae en la imposición de un reconocido status colectivo a la que la función se encuentra sujeta. A ellos Searle nombra como "funciones de status". Por ejemplo, el hecho de que en 1920 al 1945 aproximadamente, los cigarrillos en Moscú obtuvieron el "status" de dinero. La asignación de este nuevo status funcional se puede representar en la siguiente fórmula A cuenta como B en C. Los cigarros cuentan como dinero en Rusia. También es necesario tomar en cuenta que los hechos institucionales se producen sin que los participantes sean conscientes de que está sucediendo, porque simplemente crecemos en una cultura donde se nos dan las cosas por sentado y no somos conscientes de la ontología de las cosas. Cuando nos dan un billete de diez soles, no nos podemos a pensar cómo es que un papel se convirtió en dinero, lo asumimos como tal y lo concebimos en término de qué puedo intercambiar con ello. Cuando la imposición de la función de status se vuelve una política general se convierte en una regla constitutiva, y lo explicaremos a continuación.

Para poder dar respuesta a la pregunta ¿qué son las instituciones por las cuales se pueden crear los hechos institucionales? Debemos tener clara la distinción entre reglas constitutivas y regulativas. El sistema de reglas constitutivas es el que permiten la existencia de los hechos institucionales. Por ejemplo, las leyes, el matrimonio no se va a dar si es que no se siguen una serie de reglas que cumplan con la ley como el leer el acuerdo firmar el acta de matrimonio y tener un testigo que también avale la alianza, todas estas reglas conforman un sistema legal por el cual el matrimonio se consolida como legítimo. Estas reglas crean la posibilidad de ciertas actividades como lo serían en este caso el matrimonio o también se podría aplicar en un partido, el meter la pelota en el arco y el sólo patear con los pies son reglas constitutivas de ese deporte y sin ellas no se estaría jugando futbol, las regulativas tan solo regulan la actividad más no la crean.

Nuestra tesis recae en lo siguiente, las propiedades antes mencionadas acerca de la realidad social son propiedades emergentes de la sociedad en sí. El emergentismo sostiene que, en cada nivel superior de organización, aparecen (o emergen) nuevas e irreducibles propiedades que no están en el nivel inferior. Estas propiedades serían propiedades “emergentes”, que serían predicadas de un todo organizado, y no de sus partes o componentes (*). Es importante aclarar que las propiedades emergentes pueden ser biológicas como no. Lo que se requiere para que ocurra un fenómeno emergente en cualquier aspecto de la realidad es la súbita aparición de una nueva cualidad, que pudiera existir temporalmente en un rango de microsegundos a miles de años. Así como la mente emerge como propiedad de los sistemas cerebrales dichas propiedades emergen de la realidad social. En muchas sociedades industrializadas la intencionalidad colectiva y los hechos institucionales que se han creado no contribuyen al bienestar de los miembros que la conforman y el resultado de ello es la enfermedad social. Por ende, se concibe a la enfermedad social como una propiedad emergente de ciertas realidades sociales que no han llevado un proceso correcto de atribución de la función o de la intencionalidad colectiva a ciertos parámetros y normas sociales.

Por otro lado, cuando ahondamos en el aspecto psicológico y social de la enfermedad de Parkinson mencionamos el hecho de que la pérdida de la identidad no sólo se daba en términos genéticos y fisiológicos, sino además en interacción con el ambiente, ya que la identidad en sí se construye en base al entorno donde la persona se desenvuelve. Como mencionamos también los procesos ejecutivos de la persona como la memoria se ven afectados en dos aspectos, la declarativa que almacena experiencias y los conocimientos sobre el mundo en general y la memoria procedimental que nos permite recordar secuencias de movimiento de todo tipo. Esto también contribuiría a la pérdida de la historia personal de la persona y por lo tanto de su identidad. Según la teoría del aprendizaje socio cognitivo de Rotter, los humanos tienen interacción con su entorno cercano, la reacción de las personas a los estímulos de entorno depende del significado o la importancia que atribuyan a un hecho. Los refuerzos no dependen sólo de estímulos externos, sino que adquieren significados gracias a la capacidad cognitiva del individuo. Razón por la que estaría ligado estrechamente a la teoría antes mencionada. Las cogniciones afectan en la realidad social y viceversa.

Por ende, el Parkinson además de concebirse como una enfermedad mental al mismo tiempo sería parte de la enfermedad social, ya que la pérdida de identidad de la persona es al mismo tiempo la pérdida de su rol social, la perdida de intencionalidad. La persona enferma de Parkinson no puede más atribuir funciones, su intencionalidad se ve reducida porque se encuentra a merced de sus cuidadores y de lo que ellos crean es más conveniente para la persona enferma. Muchas personas sin tener Párkinson o demencia se desenvuelven socialmente en condiciones similares, por el simple hecho de no ser conscientes de la ontología de dicha realidad, así como la realidad social es en cierta forma “invisible” así también lo es la enfermedad social, pero el producto de ella son las enfermedades mentales, ya que ambas son una cara de la misma moneda.

3.2.1 El nivel familiar

La familia es dentro del desarrollo humano la primera fuente de socialización con la que el individuo entra en contacto o es por medio de ella que la persona aprender a socializar, adquiere cualidades empáticas y modos de actuación que luego extrapola en etapas posteriores de su desarrollo dentro de su desenvolvimiento dentro de la sociedad. La familia asimismo es un medio de apoyo y una fuente afectiva necesaria para el bienestar emocional de la persona.

La fundación de la Enfermedad de Parkinson de New York menciona que dicha enfermedad no sólo afecta a la persona que la vive—afecta a la familia entera y se extienda a la comunidad de amigos y seres queridos. Muchos de las personas que sufren esta enfermedad puedes ser padres, abuelos, hijos o en general algún familiar cercano. Para la recuperación y tratamiento de las personas que sufren esta enfermedad es muy importante el apoyo de los familiares involucrados y que estos cuenten con la información necesaria acerca de las consecuencias y síntomas que acarrea esta enfermedad. Debido a que una de las enfermedades relacionadas estrechamente con el Párkinson es la demencia por lo que la persona podría sufrir repercusiones en funciones como la memoria, por ende, muchas veces son los mismos familiares los encargados de suministrar el tratamiento a estas personas. Asimismo, es importante que dichas personas o cuidadores cuiden asimismo de su propia salud, para de esta manera poder apoyar de manera integral al afectado.

La enfermedad de Párkinson afecta a los miembros de la familia sobre todo a nivel de roles. Muchas veces los roles familiares terminan siendo invertidos a partir de la aparición de esta enfermedad más que todo cuando se presentan síntomas severos. ¿De qué manera?

Por ejemplo, si la enfermedad afecta a un padre, que en dicho momento cumplía un rol de sustentar el hogar en este caso posiblemente la esposa o hijos tomarán el cuidado del padre y el rol de esposa o hijos se verá invertidos siendo estos los que cuiden del padre, posiblemente la esposa deberá buscar trabajos extras para poder cubrir las necesidades económicas y los hijos también por lo que toda la dinámica familiar en general se vería afecta a raíz de este síndrome.

Es importante que la familia pueda tener en cuenta está nueva dinámica que podrían llegar a asumir y que el médico pueda informar a la familia no sólo acerca de las consecuencias fisiológicas del Párkinson, sino que sea capaz de informar a los familiares acerca de los posibles nuevos roles que tendrán que asumir. Es importante asimismo que la familia se pueda organizar para poder delegar los cuidados de la persona afectada dentro de los miembros, esto es de suma importancia para poder incentivar la motivación del afectado hacia su mejoría.

3.2.2. El nivel educativo (aspectos cognitivos)

Las repercusiones de la enfermedad de Parkinson se dan a muchos niveles uno de ellos es a nivel educativo que se relaciona estrechamente con la cognición de la persona. La cognición involucra diversas funciones, para este caso nos centraremos en el pensamiento, la memoria y el lenguaje que se encuentran directamente relacionados con la capacidad de aprendizaje del ser humano. Uno de ellos es el pensamiento, este se ve afectado debido a que a la persona que sufre de Parkinson le toma más tiempo procesar y poder hallarle un sentido a la información esto podría ser frustrante para la persona y para sus cuidadores.

Muchas veces este fallo podría interpretarse como un comportamiento intencional, falta de interés o terquedad, cuando en realidad con síntomas propios de la enfermedad. Asimismo, la persona afectada con esta enfermedad puede presentar dificultades el hecho de encontrar nuevas maneras de hacer las cosas o el poder cambiar de un tema a otro, por ello podrían ser catalogadas como personas rígidas e inflexibles. (Hirsh et al., 2012). Este fallo repercute directamente en la capacidad de aprendizaje de la persona debido ya que dentro de este proceso es crucial poder interpretar y procesar información de manera rápida y eficaz.

En cuanto a la memoria, muchas veces puede no verse afectada en su totalidad a menos que la persona con Parkinson desarrolle demencia. Muchas de las personas que sufren esta enfermedad son adultos mayores que están

más propensos a presentar este síndrome que se caracteriza por el declive progresivo de la habilidad de pensar, razonar y recordar.

Pero, aunque la enfermedad no llegue a relacionarse con la demencia, la persona con Parkinson podría experimentar dificultades en poder recordar donde y cuando han ocurrido eventos particulares. En cuanto al lenguaje, el discurso puede volverse lento o reducido. Las personas con Parkinson muchas veces no son capaces de iniciar conversaciones y este tipo de cambios puede malinterpretarse como indiferencia (Hirsh et al., 2012).

CONCLUSIONES

Cuando ahondamos en el deterioro de la actividad consciente, en particular, en sus aspectos psicológico y social de la enfermedad de Párkinson, la pérdida de la identidad no sólo se da en términos genéticos y fisiológicos, sino que, además, tenemos que tomar en cuenta la interacción con el ambiente.

Esto se debe, de manera fundamental, a que la identidad en sí se construye en base al entorno donde la persona se desenvuelve. También, los procesos ejecutivos de la persona (como la memoria), se ven afectados en dos aspectos: (1) la declarativa, que almacena experiencias y los conocimientos sobre el mundo en general y, (2) la memoria procedimental, que nos permite recordar secuencias de movimiento de todo tipo. Esto también contribuiría a la pérdida de la historia personal de la persona y, por lo tanto, de su identidad.

CAPÍTULO 4

Proyecciones Futuras

(Tecnologías aplicadas para adquirir información del rendimiento de la memoria espacial del modelo animal y su utilidad en Parkinson)

Al estar el sistema motor y el sistema viso-espacial comprometidos en síntomas y signos asociados a la patología de Parkinson buscamos la incorporación de nuevas tecnologías, que complementen técnicas existentes de estudio básico en animales de laboratorio, como es el test de nado (test de Morris).Para ello, iniciamos la incorporación de un método por imágenes (fotogrametría) para evaluar en tiempo real el comportamiento y así obtener datos cuantitativos.

Tecnologías aplicadas en el estudio de la neurobiología, la neurofarmacología y trastornos neurocognitivos en modelo animal son necesarias debido a que el estudio del comportamiento animal puede mostrar la relación que tiene su estado normal y patológico del modelo animal y este puede ser analizado por tiempos de ejecución de una tarea o la velocidad de esta acción. Una de estas tecnologías es el Test acuático de Morris que permite el estudio de la memoria espacial en un laberinto acuático de Morris.

Un estudio con modelo animal con Parkinson en un test acuático de Morris, donde se utiliza una piscina circular con agua a cierto nivel y se coloca un modelo animal, permite evaluar el tiempo de latencia que emplea el animal en encontrar una plataforma sumergida en uno de los cuadrantes de la piscina, la plataforma es considerada como un escape del agua. Al contar con el tiempo de latencia se contará con datos cuantitativos para evaluar el comportamiento del modelo animal con Parkinson y conocer el aprendizaje, la memoria espacial y su función motora.

Y si incorporamos la tecnología de fotogrametría, se puede disponer de los datos cuantitativos de forma exacta y automática, datos como la latencia de un modelo animal con Parkinson que luego pueden ser analizados con diferentes herramientas y ser presentados datos de una población de estudio en menor tiempo.

Por lo tanto, el objetivo de este capítulo es la propuesta de aplicación del uso de tecnología fotogrametría en un test acuático de Morris para obtener la

latencia de un modelo animal y generar un protocolo de estudio para movimientos de un modelo animal. Específicamente será estudiado un punto de la cabeza del modelo animal al adquirir la posición en 3D de este punto a través del uso de un sistema de captura de movimiento tridimensional. Se realizó el registro y análisis de un movimiento usando el sistema de fotogrametría "Sistema de Captura de Movimiento Vicon 460", que identifica y captura las señales analógicas en tiempo real del punto en la cabeza, identificado a través un marcador colocado en el modelo animal.

El software Workstation v4.6 de Vicon es una interface que permitió realizar el registro de posiciones en 3D, que muestra la trayectoria del punto de interés para luego procesar la data registrada y obtener la presentación de los resultados de forma gráfica mediante el mismo software Workstation v4.6 y otro software MATLAB R2013b para analizar la velocidad del movimiento.

A continuación, se presenta los conceptos utilizados en esta parte de la investigación, como sistema de visión, procesamiento de imágenes, fotoinstrumentación y un estado del arte de trabajos sobre movimientos de un modelo animal en un test de Morris.

4.1.1 Sistema de Visión y Procesamiento de Imágenes en Análisis del movimiento

Iniciando el concepto de visión al mostrar como el ser humano captura la luz a través de los ojos, y que esta información circula a través del nervio óptico hasta el cerebro donde es procesada. Existen razones para creer que el primer paso de este procesamiento consiste en encontrar elementos más simples en los que descomponer la imagen (como segmentos y arcos). Después el cerebro interpreta la escena y por último actúa como consecuencia del estímulo. Es así que luego se puede establecer que la visión artificial se define tradicionalmente por cuatro principales fases (Vélez et al. 2003):

1. Captura o adquisición de las imágenes digitales mediante algún tipo de sensor.

2. Procesamiento digital de las imágenes, con objeto de facilitar las etapas posteriores. En esta etapa de procesamiento previo es donde, mediante filtros y transformaciones geométricas, se eliminan partes indeseables de la imagen o se realzan partes interesantes de la misma.
3. Segmentación, consiste en aislar los elementos que interesan de una escena para comprenderla.
4. Reconocimiento o clasificación. En ella se pretende distinguir los objetos segmentados, gracias al análisis de ciertas características que se establecen previamente para diferenciarlos.

Estas cuatro fases no se siguen siempre de manera secuencial, sino que en ocasiones deben realimentarse hacia atrás. Así, es normal volver a la etapa de segmentación si falla la etapa de reconocimiento, o a la de pre proceso, o incluso a la de captura, cuando falla alguna de las siguientes (ver Fig.1).

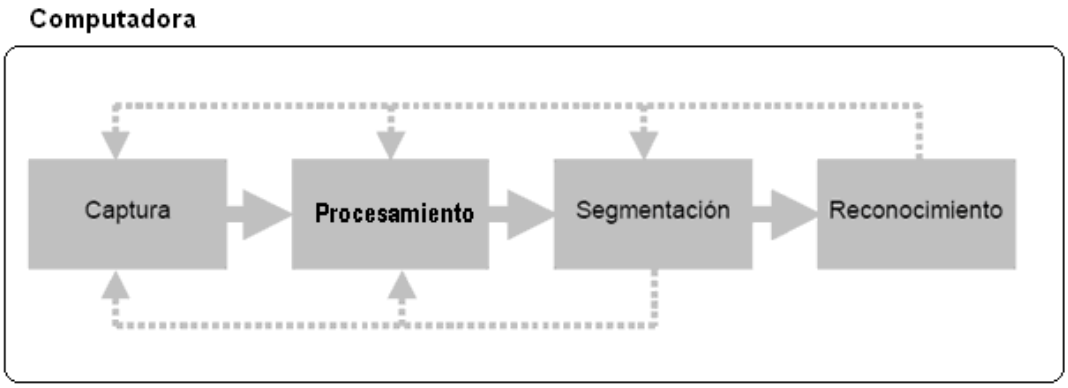


Fig 1. Diagrama de bloques de las etapas típicas en un sistema de visión artificial (modificado de Vélez et al. 2003).

4.1.2 <u>La fotoinstrumentación</u>

La fotoinstrumentación ha sido durante más de un siglo la técnica por excelencia aplicada al análisis biomecánico del movimiento humano. La fotogrametría como parte de la fotoinstrumentación consiste en “un conjunto de técnicas que permiten obtener información respecto a las dimensiones, posición y orientación de un objeto físico y de su entorno, por medio de filmación medida y cálculos matemáticos sobre dichas medidas”, donde las coordenadas espaciales de los puntos materiales de interés (puntos

anatómicos) se calculan a partir de las coordenadas planas de las imágenes de los puntos digitalizados registradas simultáneamente por al menos dos cámaras. La digitalización manual de los marcadores en cada fotograma o escena ha impulsado, entre otras cosas, el desarrollo de sistemas automáticos de digitalización. Durante los primeros años de la década de los 70 se emplean los sistemas optoelectrónicos, basados en el uso de cámaras capaces de detectar la posición de marcadores pasivos o activos en función de su luminosidad. Estos sistemas se emplean cada vez más en el campo de la Biomecánica del movimiento humano al menos en condiciones de laboratorio.
Hoy en día, son muy conocidos los sistemas ELITE, VICON, PRIMAS, ExpertVision, SELSPOT II, OPTOTRAK 3D, CODA-MPX30 que se clasifican en familias en función del tipo de sensores que emplean. De modo que, es necesario establecer criterios que permitan valorar objetivamente las prestaciones de cada sistema para registrar y procesar los datos registrados y, en definitiva, la calidad de la información que se obtiene de cada uno (Gianikellis 1996). Asimismo, se requiere de técnicas de suavizado para lograr curvas adecuadas a partir de las coordenadas obtenidas desde la filiación con un sistema de video.

4.1.3 Movimientos de un modelo animal en un test de Morris

En este ítem se presenta un estado del arte relacionado a trabajos de investigación en neurociencias aplicando el test de Morris como herramienta de apoyo.

Primero, se presenta el trabajo de Arranz et al. Titulado “El aislamiento social durante la vejez empeora el deterioro cognitivo, conductual e inmunitario” tuvo como objetivo crear un modelo animal de soledad durante la vejez para estudiar en este los cambios en el perfil cognitivo, conductual e inmunitario a los que conduce el aislamiento social en esta etapa de la vida. Arranz et al. realizaron varias pruebas con ratones hembras de 18 meses de vida. A esta edad avanzada los animales realizaron una serie de pruebas, una de ellas la prueba o test acuático de Morris para valorar aprendizaje y memoria. Dando como resultado del estudio conductual que los animales aislados durante la

vejez muestran un declive funcional y cognitivo, como problemas de aprendizaje y memoria. Y los resultados fueron trabajados en base a la comparación de los tiempos que el grupo de estudio necesitó para encontrar la plataforma versus a un grupo de control, llamado como latencia en un rango de 0-90s.

A continuación, se muestra los rangos de latencia, tiempo que demora un modelo animal en encontrar una plataforma en el test acuático de Morris, recopilados de la literatura especializada, ver tabla 1:

Tabla 1. Tiempo necesario en el recorrido para encontrar una plataforma en el test acuático de Morris (latencia)

	Velocidad (m/s)	**Rango de Latencia (s.)**	**Modelo animal (tiempo de vida)**
Arranz et al.	-	15-60	Ratones hembras de 18 meses
Bonilla et al.	-	15-35	Ratas de 15 días

4.2. Metodología

En este trabajo se identificó la posibilidad del uso de la fotogrametría y técnicas de procesamiento de imágenes aplicado a un test acuático de Morris para identificar el movimiento de un modelo animal. Primero, se realizará una etapa de inicialización del sistema donde se utilizará un objeto móvil para luego en una segunda etapa trabajar con un modelo animal dentro de un sistema de fotogrametría configurado para la aplicación deseada.

4.2.1 Primera Etapa de inicialización del sistema

Se analizó el movimiento de un objeto móvil con un único marcador que se desplazaba en un plano horizontal, se diseñó un pequeño carro de madera que simulaba el movimiento de un modelo animal para probar y calibrar el Sistema VICON.

La metodología utilizada para desarrollar las sesiones de captura de movimiento utilizando un sistema de cámaras VICON 460, sistema de fotogrametría y/o registro de movimiento se basa en 3 procesos: examinar al objeto o animal, detectar movimientos del objeto o modelo animal y registrar estos movimientos. En el primer proceso se toma las medidas del objeto o modelo animal que sirve de complemento a los siguientes procesos, y en los procesos 2 y 3 se realizan las tareas previas al análisis del movimiento basado en el uso de un sistema de fotogrametría, sistema Vicon 460, que determina la posición de determinados puntos de los componentes en el test acuático de Morris a través de los datos recolectados de los marcadores reflectantes colocados en 4 puntos cardinales y uno en el cuerpo del objeto o modelo animal. Los marcadores son de 25mm de diámetro y 1gr. de peso. Este sistema Vicon 460 está conformado por seis cámaras del modelo 6710 que cuentan con estroboscopio infrarrojo para poder captar imágenes a una frecuencia de muestreo de 60 Hz.

Para capturar los datos se utiliza un programa llamado Workstation V4.6 que permite el registro de los datos del movimiento del sujeto en 3D y puede simular el movimiento en 3D, así como obtener los resultados de las variables cinéticas recolectadas en sesiones de captura de movimiento, lo que se identifica como proceso de registrar los movimientos humanos o simplemente "recolección de datos".

Las sesiones de captura de movimiento utilizando un sistema de cámaras Vicon permiten al especialista realizar el análisis cinemático a futuro proveyendo una herramienta en el desarrollo de patrones de movimiento normales basada en la información de las curvas de la trayectoria del objeto que realiza un movimiento dado o modelo animal en un test acuático de Morris intentando encontrar la plataforma base.

4.2.2 Proceso de detectar movimientos del objeto con movimiento dado y registrar los movimientos

En estos procesos se usa el sistema Vicon 460, basado en fotogrametría en 3D. Estos procesos constan de seis subprocesos: configurar el sistema Vicon (preparación del ambiente y cámaras Vicon), calibrar el sistema Vicon, preparar al objeto que simulará un movimiento de un modelo animal (tomar medidas y colocar los marcadores, en este caso se consideró un marcador en medio del objeto móvil, (ver Fig. 2), registro de movimiento tipo estático, registro del movimiento tipo dinámico.

El sistema Vicon utiliza sistemas de adquisición y procesamiento de imágenes en 2D las cuales serán reconstruidas a 3D con un alto grado de precisión por sus técnicas de optimización.

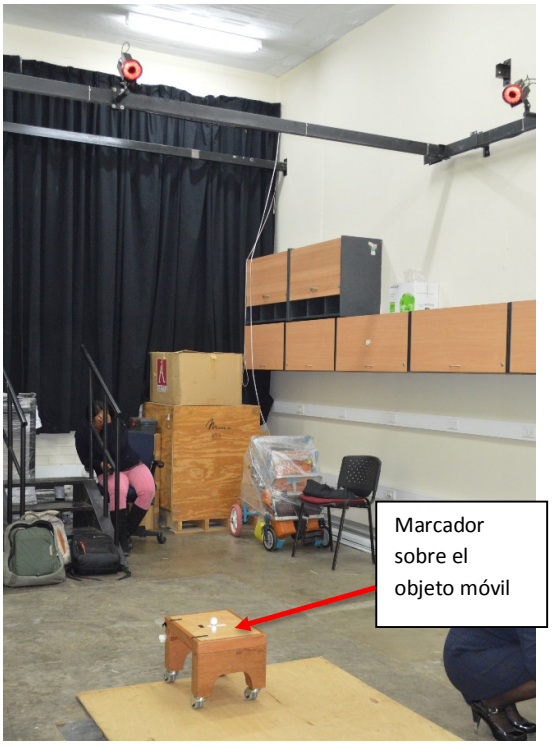


Fig. 2. Objeto móvil dentro de la base cuadrada de 1.5m de lado

4.2.2.1 Configuración del Sistema

Para la configuración del sistema es necesario realizar dos procesos: preparación del ambiente y configurar las especificaciones técnicas de las 6 cámaras del sistema Vicon 460.

Preparación del Ambiente:

Las pruebas de análisis del movimiento se realizan en el Laboratorio LIBRA (Laboratorio de Investigación Biomecánica y Robótica Aplicada) ubicado en la Sección de Ingeniería Mecánica de la Pontificia Universidad Católica del Perú (ver Fig. 3). En este ambiente, se definió un área central cuadrada de 1.50m y poder calcular un volumen cubico de trabajo, de 1.5m de lado, lo que permitirá tener una visibilidad precisa de las cámaras.

El laboratorio cuenta con 6 cámaras de infrarrojos, y una computadora Lenovo (Intel core i5). El sistema de análisis de la marcha usado en el presente estudio fue el sistema Vicon 460®, productos de software de Vicon (Workstation v44.6 y polygon v5.6) y están diseñados para el estudio tridimensional cinemático de movimientos. El sistema Vicon 460® recoge y filtra toda la información cinemática capturada por las cámaras infrarrojas sobre marcadores reflectantes colocadas en un objeto móvil animal desplazándose en un recorrido.

Los informes gráficos presentados por el sistema hacen referencia a la latencia y velocidad del movimiento del objeto móvil simulando al modelo animal.
Para realizar todos estos cálculos se tomaron algunas premisas y requisitos propios del sistema.

Estas asunciones fueron las siguientes:

- Es registrado el movimiento del marcador colocado en el centro del objeto móvil que simula la cabeza del modelo animal.
- Existe un sistema de coordenadas cartesiano fijo en el laboratorio que es independiente del objeto móvil y que no varía con respecto al entorno.

Cámaras Vicon:

En el proceso de digitalización se utilizó seis cámaras de modelo Pulnix TM6701 con obturación electrónica y rango de frecuencia de 60 Hz, estas son cámaras pertenecientes al sistema Vicon. Por lo que las denominaremos cámaras Vicon.

Para configurar las cámaras Vicon se debe usar el software Workstation de Vicon,

Finalmente, ubicar las seis cámaras en su posición adecuada, de tal forma que estas capten el área de análisis y sean simétricas (ver Fig. 3).

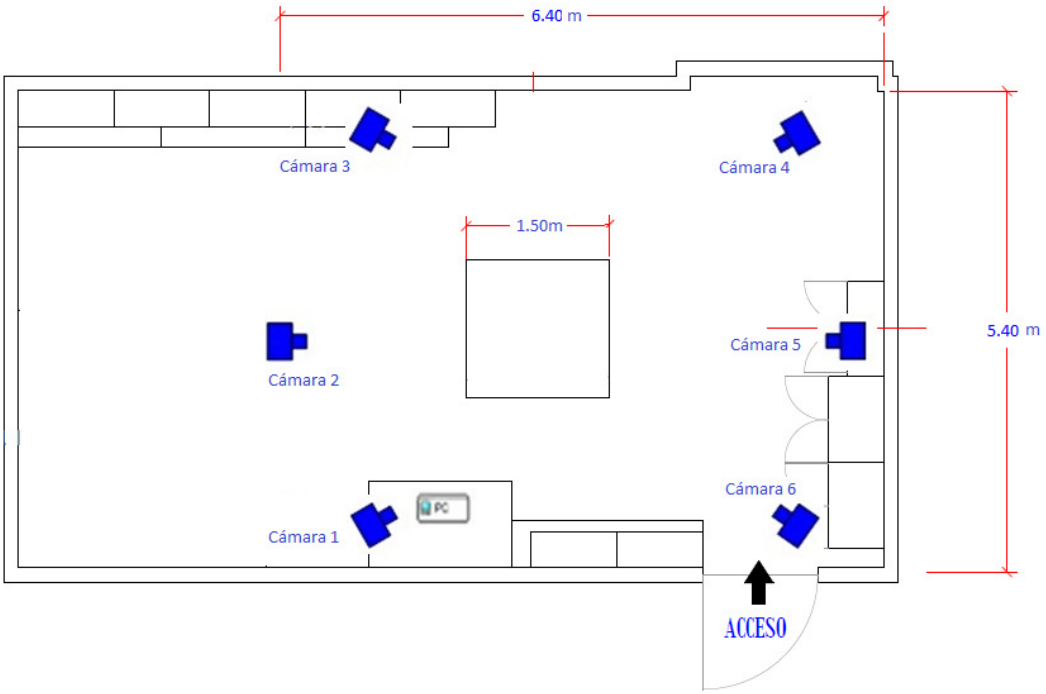


Fig. 3. Ubicación de las cámaras y el volumen cubico en el centro del Laboratorio LIBRA de la Sección de Ingeniería Mecánica, Pontificia Universidad Católica del Perú.

4.2.2.2 <u>Calibración del Sistema</u>

Esta calibración se debe realizar siempre que se comienza una sesión nueva. El desempeño del sistema Vicon depende fundamentalmente de la precisión con que el sistema este calibrado. El proceso de calibración incluye la identificación de los parámetros internos (longitud focal, distorsión de la imagen) y externos (posición de la cámara y la orientación). El procedimiento de calibración 'DynaCal' se ocupa del cálculo de todos estos parámetros a través de dos procesos simultáneos: La distorsión óptica de la cámara y cualquier otro proceso no-lineal. En este sistema se mide una corrección y se

calcula la matriz. Las correcciones se aplican a cada marco de datos, con la que fue adquirida por las cámaras, la ubicación física y las orientaciones de las cámaras se calculan, refiriéndose a un conjunto de coordenadas definidas por el usuario (Reátegui, 2012).

Para calibrar las cámaras se tiene dos procesos: Calibrar de forma estática y calibrar de forma dinámica.

Calibración Estática:

La calibración estática define el eje de coordenadas y obtiene la imagen en una referencia conocida, lo cual es de gran importancia en el análisis del movimiento, en este caso particular el movimiento del objeto móvil o del modelo animal en un test acuático de Morris. Para realizar este tipo de calibración se utilizará un dispositivo calibrador Ergocal (Small Calibration), el cual tiene la forma de un triángulo plano y consta de cuatro marcadores (ver Figura 4). Es el único objeto reflectante visible a todas las cámaras, y se colocará en el centro del área de análisis del movimiento, colocando los 3 marcadores de este dispositivo alineados a la dirección principal del movimiento del objeto móvil.

Fig. 4. Calibrador Ergocal

Para dar inicio a la calibración estática, en el software Workstation escoger la etiqueta “System” del menú principal y luego la opción “Calibrate Cameras”. Finalmente, oprima “Start” y se iniciará la calibración estática automáticamente. Una vez finalizada, estará lista para iniciar la calibración dinámica.

Calibración Dinámica:

La calibración dinámica define el volumen de trabajo o análisis, es decir, el espacio por donde el objeto móvil o modelo animal realizará el movimiento.

Para ello, se usa un dispositivo calibrador “T-cal 390 Wand”, esté es una varita en forma de T con tres marcadores. Para iniciar la calibración, oprima la opción “Start” en la ventana “Data Capture – Calibration (Dinamic)”, después 2 minutos de prueba presione “Pause” y finalmente “Stop”.

Una vez terminada la calibración aparecerá la siguiente ventana, en la cual se deberá comprobar si los valores obtenidos se encuentran en el rango de precisión. Se debe lograr una media residual menor a 1 mm y una exactitud de reproducibilidad en el rango de 78% a 80%, como se muestra en la siguiente figura 5.

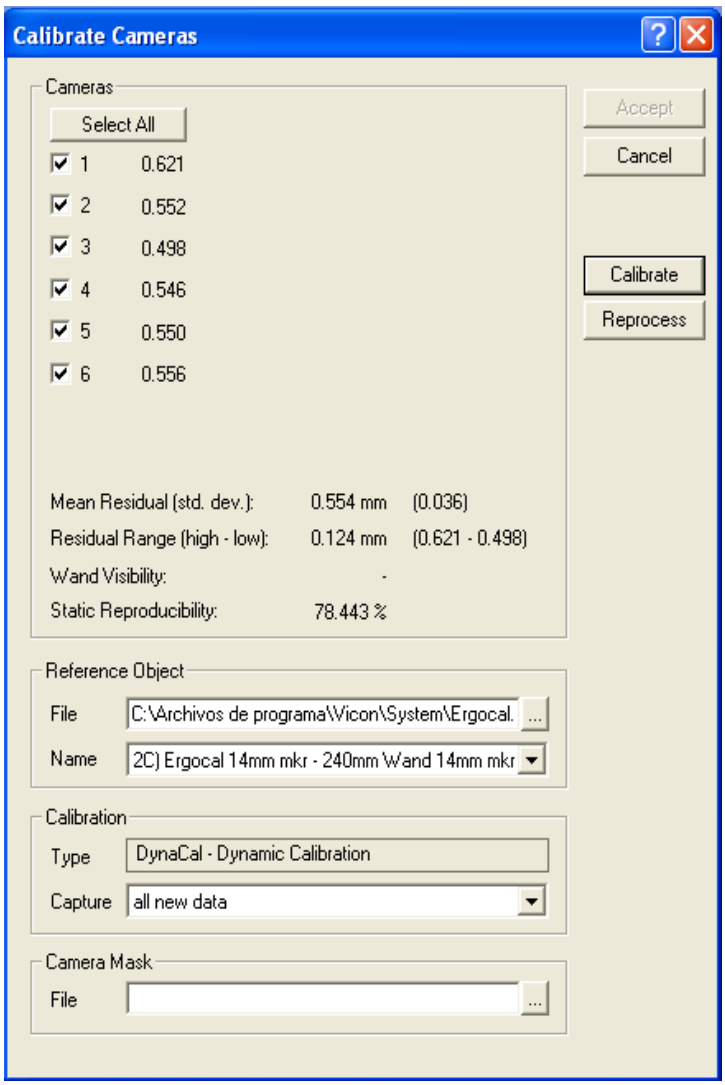


Fig. 5. Ventana de verificación de los resultados de la Calibración Estática y Calibración Dinámica

4.2.2.3 Proceso Estático

El proceso estático permite el reconocimiento de los marcadores en posición estática en las seis cámaras, por lo que se colocará el objeto móvil en el centro del área cuadrada que simule la posición inicial del modelo animal en una piscina.

Se procede al proceso estático, adquiriendo los datos de las cámaras en 2D para convertirlas en 3D.

Para **reconstruir las coordenadas en el proceso estático se debe** analizar la prueba estática elegida, y definir el intervalo de tiempo en el cual los marcadores colocados son captados por lo menos en dos cámaras (2D) para ser procesados por el software y nos genera una imagen en 3D.

Luego etiquetar los marcadores de la imagen cuyas etiquetas se encuentran ubicadas en la columna de la derecha del pantallazo del software. Posteriormente, elegir la pestaña “Trial” de la barra de menú, oprimir la opción “Create Autolabel Calibration” y aceptar. Luego ingresar a la opción “Pipeline” y elegir “Run Static Gait Model” con el cual se corre el modelo estático de calibración, dentro de esta opción colocar el diámetro de los marcadores (25mm), escoger las opciones estáticas y aceptar. Finalmente, oprimir el botón “Process Now”.

4.2.2.4 Proceso Dinámico

El proceso dinámico permite capturar la trayectoria recorrida por los marcadores colocados en el test en este caso solo un marcador. En este proceso el modelo animal nada en un espacio desconocido y debe hallar un soporte, lo que demora e encontrar la plataforma es el recorrido para el análisis del movimiento.

Para reconstruir la Trayectoria en el Proceso Dinámico consiste en etiquetar los marcadores con la opción Autolabel del software Workstation.

Seguidamente, en la opción “Pipeline” elegir las siguientes opciones:

- Fill Gaps, verificar la opción activada y oprimir OK.
- Apply Woltring Filtering Routine, verificar la opción activada y oprimir OK.
- Auto correlate Evens
- Generate Gait Cycle Parameters.- genera los parámetros del ciclo de la marcha como cadencia, longitud de de paso, etc.
- Run Dynamic Gait Model

Estas opciones permiten que el software realice la completa reconstrucción de la trayectoria a través de interpolación, detección y generación de los parámetros de la trayectoria del movimiento del objeto móvil.

4.2.2.5 Reporte

En el reporte se presenta las velocidades y latencias, tiempo que demora el objeto móvil de ir de un punto de inicio a un punto final predeterminado, simulando el movimiento de un modelo animal en un tests acuático de Morris encontrando la plataforma en una piscina. La siguiente grafica (figura 6) muestra la velocidad del objeto móvil obtenido procesando los datos obtenidos con el sistema Vicon y exportados a la herramienta de software Matlab.

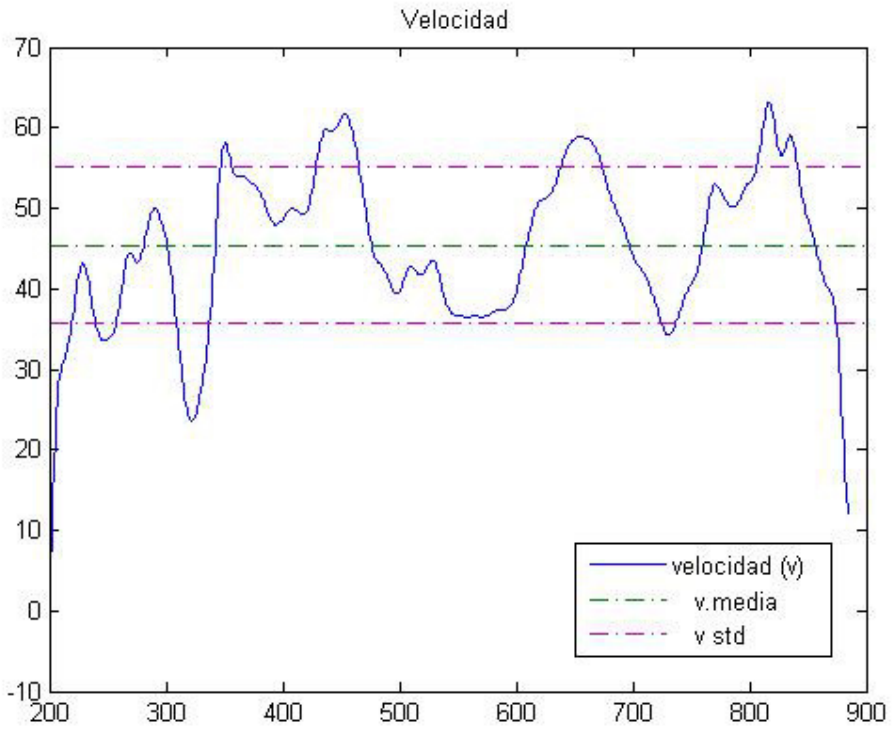


Fig. 6. Grafico de la velocidad del objeto móvil versus el número de frame de la trayectoria

4.3 Segunda Etapa de Test de Morris con un modelo animal

4.3.1 Preparación del Modelo animal

El modelo animal es presentado como un sistema de un solo segmento corporal (cabeza). Para este trabajo se tomará como modelo animal a una rata macho cepa Sprague Dowley (280-310 g) y se analizará solo el movimiento de un punto de la cabeza.

En este caso como es un solo marcador observado no se necesita realizar una toma de medidas antropométricas del modelo animal.

4.3.2 Protocolo

Colocación de Marcador:

La colocación del marcador se basa en el tipo de análisis de movimiento y número de segmentos corporales a estudiar. En este estudio de analizará

únicamente el movimiento de la cabeza del modelo animal, entonces se requiere de la colocación de un marcador reflectantes de 25mm de diámetro para ello se debió usar una cinta de doble cara color negro. Además se utilizaran 4 marcadores adicionales para tener la referencia de las dimensiones y ubicación de los puntos cardinales de la piscina usada en el tests acuático de Morris. Además, se debe ubicar la plataforma, esto es, tener las coordenadas dentro del software Workstation. El material que cubre los marcadores es retrorreflectiva, compuesto de pequeñas esferas de cristal. Se utiliza una cinta de doble cara, la cual se adhiere a la piel del modelo animal, lo que permite un movimiento libre de este.

Los marcadores se colocan en las siguientes posiciones:

Marcador en el modelo animal:

Los marcadores deben ser colocados por encima y en medio entre las orejas de la rata.

Marcadores de los puntos cardinales de la piscina:

Para la colocación precisa de los marcadores en los puntos cardinales es necesario marcar estos puntos por anticipado y luego colocar el marcador fuera de la circunferencia del borde la piscina. La piscina tiene 1.47m de diámetro y una altura de 0.33m y el agua tiene una profundidad de 0.2m.

El agua de la piscina del test acuático de Morris usado tuvo una temperatura templada a 22°C y se colocó una plataforma de 0.19m de altura y diámetro 0.1m, sumergida 1cm por debajo de la altura del agua, el cual es el punto final de la trayectoria del modelo animal (ver figuras 7 y 8).

Fig. 7. Colocación de un marcador reflectante de 25mm de diámetro, para el registro del movimiento de la cabeza del modelo animal

Fig. 8. Ubicación de 4 marcadores reflectantes de 25mm de diámetro en puntos cardinales de la piscina del test acuático de Morris, para el registro del movimiento de la cabeza del modelo animal

Preparación del Ambiente y ubicación de una cámara convencional adicional: Además de la preparación del ambiente de la primera etapa de inicialización de sistema es necesario colocar una cámara convencional Canon vixia HF R400 para futuros estudios, como se muestra en la siguiente figura 9.

Fig. 9: ubicación de la cámara convencional Canon a 3m de altura sobre el nivel del piso

Prueba con el modelo animal:

Ubicar al modelo animal en la piscina para aprender a reconocer el medio por 1 minuto. Retirar al modelo animal y realizar 3 veces este primer procedimiento.

Luego de un descanso de 10 minutos, esto es, retirar al modelo animal y colocarlo en descanso y después colocar el modelo animal en la piscina, al borde del punto cardinal sur, y finalmente esperar que el modelo animal ubique la plataforma en el recorrido de la piscina (ver Figura 10) para la primera prueba de ubicar la plataforma el tiempo de latencia fue 8 segundos.

Fig. 10: Punto final de la trayectoria del modelo animal, cuando encuentra la plataforma ubicada en el cuadrante noreste

4.4. Conclusiones

Usar tecnología fotogrametría de alta precisión en un test acuático de Morris, dio como resultado contar con data cuantitativa acerca del comportamiento del modelo animal, a una frecuencia de 60Hz. Y los datos obtenidos con el sistema Vicon, son de fácil exportación en formato ASCII y estos datos pueden ser procesados y analizados por medio de la herramienta de software Matlab.

El protocolo desarrollado en este estudio permitió identificar la latencia de 8 segundos en un modelo animal en una prueba. No se repitió nuevamente más pruebas, debido a que esto fue únicamente realizado con el objetivo de demostrar que el protocolo usando la técnica propuesta puede ser usado en un test de Morris y obtener además la velocidad del movimiento del modelo animal, logro importante para un estudio futuro del funcionamiento motor y el estudio del efecto de la patología de Parkinson en un modelo animal.

CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES FINALES

A continuación, se presentarán las principales conclusiones que, de manera general, se deslindan de todas las etapas de nuestra investigación, cuidando de mostrar los distintos niveles que se encuentran involucrados en el desarrollo de la enfermedad del Parkinson. Hacia el final, se indicarán algunas consideraciones que creemos importantes tener en cuenta para abordar y poder brindar una posible terapia a los pacientes que sufren este mal.
Muchos núcleos cerebrales en ratas inmunopositivos para NPY (NPY-ir) han sido descritos como sugiriendo posibles funciones del neuropéptido Y (NPY) en el cerebro.

En nuestros experimentos desarrollados, hemos identificado tanto fibras como somas NPY-ir en los grupos Operado y Operado-con-6-OHDA, en áreas cerebrales tales como Corteza cerebral, estriado terminal, Caudado-putamen, Cápsula interna e hipocampo. Alternativamente, se encontró somas y fibras NPY-ir en el núcleo talámico posteromedio ventral (VPM).

En la faceta de la enfermedad intercelular y sistémica, se ha encontrado un cambio en la densidad neuronal de hasta 75% en la densidad neuronal. Lo que nos refiere que la evolución del Parkinson estaría asociada con diferentes tipos de estrés (intra e inter celular), en las redes neuronales. Y que tendrían como destino final la muerte celular de muchas neuronas. Las causas exactas de esta programación de muerte celular son en la actualidad motivo de mucho debate en la comunidad internacional de investigadores.

Lo que si podemos sugerir es que, aun cuando no poseemos los datos suficientes como para deslindar entre las posibles funciones que se postulan sobre el neuropéptido Y (NPY) en el cerebro, sí podemos afirmar que el aumento de la concentración, y su presencia en los núcleos reportados, nos estarían señalando que el neuropéptido Y (NPY) podría ser considerado como un indicador confiable de esta enfermedad.

Sin embargo, el hecho de encontrar un alto cambio en la densidad neuronal (casi un 75%), nos estaría indicando que quizá habría un cierto compromiso de la red neuronal por defecto. Hemos señalado que dicha red neuronal por

defecto estaría involucrada en cómo el cerebro organiza los recuerdos y diversos sistemas que necesitan cierta preparación ante los futuros sucesos.

De este modo, si la red neuronal por defecto prepara al cerebro para la actividad consciente, es posible postular que el neuropéptido Y (NPY) estaría involucrado, de alguna manera, con esta red neuronal por defecto y que, además, estaría jugando algún rol (por más pequeño que fuera) con los nodos que conforman a los circuitos neuronales que estarían participando en el desarrollo de la experiencia consciente.

Así, cuando ahondamos en el deterioro de la actividad consciente, en particular, en sus aspectos psicológico y social de la enfermedad de Párkinson, la pérdida de la identidad no sólo se da en términos genéticos y fisiológicos sino que, además, tenemos que tomar en cuenta la interacción con el ambiente.

Esto se debe, de manera fundamental, a que la identidad en sí se construye en base al entorno donde la persona se desenvuelve. También, los procesos ejecutivos de la persona (como la memoria), se ven afectados en dos aspectos: (1) la declarativa, que almacena experiencias y los conocimientos sobre el mundo en general y, (2) la memoria procedimental, que nos permite recordar secuencias de movimiento de todo tipo. Esto también contribuiría a la pérdida de la historia personal de la persona y, por lo tanto, de su identidad.

En otro momento de nuestro proyecto, se usó la tecnología de fotogrametría de alta precisión en un test acuático de Morris, dando como resultado contar con data cuantitativa acerca del comportamiento del modelo animal, que existen datos a una frecuencia de 60Hz. Y los datos obtenidos en el sistema Vicon es de fácil exportación en formato ASCII, y estos datos pueden ser procesados y analizados por medio de la herramienta de software Matlab.

El protocolo desarrollado en este estudio permitió identificar la latencia de 8 segundos en un modelo animal en una prueba. No se repitió nuevamente más pruebas, debido a que esto fue únicamente realizado con el objetivo de

demostrar que el protocolo usando la técnica propuesta puede ser usado en un test de Morris y obtener, además, la velocidad del movimiento del modelo animal. Este es un logro importante para un estudio futuro del funcionamiento motor y el estudio del efecto de la patología de Parkinson en un modelo animal.

Para terminar, como comentarios y recomendaciones finales, podemos señalar los siguientes:

-La enfermedad de Parkinson como otras enfermedades emparentadas, puede ser concebida como una enfermedad que se desarrolla a diferentes niveles de complejidad.
-En el nivel personal, la enfermedad de Parkinson resulta en una alteración profunda en la identidad del yo del paciente.
-El yo del paciente, no es solo la identidad genética sino la sumatoria de diferentes componentes de un continuo fruto de la interacción con el entorno.
-La relación del paciente con su terapeuta es de suma importancia, no solo en el plano molecular sino en el nivel personal.
-La alianza terapéutica entre el terapeuta y el paciente requiere tomar en cuenta el contexto más amplio en el que se encuentra el paciente.
-Se requiere la formación de profesionales de la salud con una visión interdisciplinaria, que permita el tratamiento de pacientes con enfermedades degenerativas de la identidad personal.
-La enfermedad de Pakinson es una enfermedad social también, que involucra la participación de la familia, la comunidad más cercana y la sociedad.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, L. (2006). Estudio de neuropéptidos del sistema nervioso auditivo central ascendente. *Physiological Mini-Reviews. 2*:4.

Aguilar, L.A. et al. (2004) Immunocytochemical distribution of Met-enkephalin-Arg6-Gly7-Leu8 (Met-8) in the auditory system of the rat. *Hear Res. 187*(1-2):111-121.

Aguilar, L.A. et al. (2013). Breves consideraciones sobre el rol del sueño sobre los procesos de memoria y del aprendizaje. *ALETHEIA*. 113-121.

Aguilar, L.A., Baquerizo, M., & Baquerizo. L. (2013). Hepatic sensitivity to the insulin in residents from high-altitude and sea level areas using the CL. AMPEH method. *Apunt. cienc. Soc., 03*(02).

Andrews-Hanna, J.R., Smallwood. J., & Spreng, R.N. (2014). The default network and self-generated thought: component processes, dynamic control, and clinical relevance. *Annals of the New York Academy of Sciences, 1316 (1),* 29-52.

Arranz, L., Giménez-Llort, L., De Castro, N., Baeza, I., & De la Fuente, M. (2009)El aislamiento social durante la vejez empeora el deterioro cognitivo, conductual e inmunitario. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol. 44(3),*137-142.

Atlas, L. Y., & Wagner, T. D. (2014). A meta-analysis of brain mechanisms of placebo analgesia: Consistent findings and unanswered questions. *Handbook of Experimental Pharmacology, 225,* 37-69.

Benedetti, F., Carlino, E., & Pollo, A. (2011). How placebos change the patient´s brain. *Neuropsychopharmacology, 36(1)*, 339-354.

Binder, J.R., et al. (1999) Conceptual processing during the conscious resting state. A functional MRI study. *J. Cogn. Neurosci., 11,*80-95.

Bluhm, R.L., et al. (2007) Spontaneous low-frequency fluctuations in the BOLD signal in schizophrenic patients: Anomalies in the default network. *Schizophr. Bull 33,* 1004-1012.

Bonilla, A., Bonilla, L., Francist, L., & González,T. (2008). Efectos del COMPVIT-B® sobre la memoria y elaprendizaje espacial y la actividad motora en ratas Wistarneonatas. *Revista Tumbaga 3*, 81-91.

Botvinick, M.M., & Cohen, J.D. (2014). The computational and neural basis of cognitive control: charted territory and new frontiers. *Cogn. Sci. 38*, 1249-1285.

Braun. R. (2011). La conciencia humana y el emergentismo. *PERSONA, 14,* 159-185

Braun, R. (2014). El emergentismo y la aparición de la conciencia. En C. Mantilla, P. Quintanilla Pérez-Wicht, & P. Cépeda (Eds.), *Cognición social y lenguaje. La intersubjetividad en la evolución de la especie y en el desarrollo del niño.* Lima: PUCP.

Bridgeman, B., Hijiden, A.H.C. Vd, & Velichovsky, B.M. (1994). A theory of visual stability across saccadic eye move- ments. *Behav. Brain Sci. 17*, 247-292.

Broyd, S.J., Demanuele, C., Debener, S., Helps, S.K., James, C.J., & Sonuga-

Barke, E.J.S. (2009). Default-mode brain dysfunction in mental disorders: A systematic review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews 33 (3)*, 279-96.

Buckner, R.L., Andrews-Hanna, J.R, & Schacter, D.L. (2008). The Brain's Default Network: Anatomy, Function, and Relevance to Disease. *Annals of the New York Academy of Sciences 1124 (1)*,1-38.

Buckner, R.L., Andrews-Hanna, J.R., Schacter, D.L. (2008). The brain's default network: Anatomy, function, and relevance to disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.,1124*, 1-38.

Bunge, M. (1977). Emergence and the mind. *Neuroscience, 2*,501-509.

Camacho, J. (2003), *El ABC de la Terapia Cognitiva*. Paidos: Barcelona.

Casavant, E. (2015). National family caregivers month. *Parkinson's Disease Foundation*. Recuperado de http://www.pdf.org/caregivers_month

Cocchi, L., Zalesky, A., Fornito, A., & Mattingley, J.B. (2013). Dynamic cooperation and competition between brain systems during cognitive control. *Trends Cogn. Sci. 17*, 493-501.

Corbetta, M., & Shulman, G.L. (2002). Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nat. Rev. Neurosci. 3*, 201-215.

Coveñas, R. et al. (2004). An immunocytochemical mapping of methionine-enkephalin-Arg(6)-Gly(7)-Leu(8) in the human brainstem. *Neuroscience 128(4),*843-859.

Coveñas, R. et al. (2011). Mapping of Somatostatin-28 (1- 12) in the Alpaca diencephalon. *Journal of Chemical Neuroanatomy, 42*, 89-98.

Coveñas, R. et al. (2012). Mapping of CGRP in the Alpaca Diencephalon. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, *45*, 36-44.

Coveñas, R., & Aguilar, L. (2010). *Avances en neurociencia. Neuropéptidos: Investigación básica y clínica.* Lima: Fondo Editorial UPC.

Crick, F., & Koch, C. (1998). Consciousness and neuroscience. *Cerebr. Cortex 8*, 97-107.

Cuadrado, I. et al. (2005). Mapping of neurokinin b in the cat brainstem. *Anat. Embryol. (Berl)., 210(2),*133-143.

De Souza, E. et al. (2007). Mapping of Leucine-Enkephaline in the Alpaca (Lama Pacos) Brainstem. *Focus on Neuropeptide Research*, 103-113.

De Souza, E. et al. (2008). Mapping of CGRP in the Alpaca (Lama Pacos) Brainstem. *Journal of Chemical Neuroanatomy 35*, 346-355.

De Souza, E., et al. (2014) Mapping of Neurotensin in the Alpaca (Lama pacos) Brainstem. *Anatomia Histologia Embryologia. Journal of Veterinary Medicine 43*, 245- 256.

De Felipe, J. (2011). The evolution of the brain, the human nature of cortical circuits, and intellectual creativity. *Frontiers in neuroanatomy 5:17.* doi: 10.3389/fnana.2011.00029.

Emborg, M. E. (2007). Nonhuman Primate Models of Parkinson's Disease. *Institute for Laboratory Animal Research Journal, 48* (4), 339-55.

Espinoza, G., Oruro, E., Carrión, D., & Aguilar, L. (2010). Aprendizaje, Memoria Neuroplasticidad. I Congreso Mundial de Neuroeducación ASEDHCEREBRUM.

Facchini, M. (2004). Cambio de conductas en tratamientos de larga duración. Relación médico-paciente. *Fundación Revista Medicina* 64(6), 550-554. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/pdf/medba/v64n6/v64n6a13.pdf

Fox, M.D., Halko, M.A., Eldaief, M.C., Pascual-Leone, A. (2012). Measuring and manipulating brain connectivity with resting state functional connectivity magnetic resonance imaging (fcMRI) and transcranial magnetic stimulation (TMS). *Neuroimage 62,* 2232-2243.

Frith, C.D., Friston, K., Liddle, P.F., & Frackowiak, R.S.J. (1991). Willed action and the prefrontal cortex in man: a study with PET. *Proc. R. Soc. Lond. B 244*, 241-246.

Fuster, J. (2010). El paradigma reticular de la memoria cortical. *Rev. Neurol, 50* (Supl. 3), s3-s10.

Gardner, H. (1985) *The Mind's New Science: A History of the Cognitive Revolution.* New York: Basic Books.

Gianikellis, K. (1996). Características Técnicas y Prestaciones de los Sistemas Optoelectrónicos más Difundidos en el Campo de la Biomecánica del Movimiento Humano. Estado Actual de Conocimientos, *Revista Motricidad, 2,*191-210.

Greicius, M.D., Krasnow, B., Reiss, A.L., Menon,V. (2003) Functional connectivity in the resting brain: A network analysis of the default mode hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 100*, 253-258.

Greicius, M.D., Srivastava, G., Reiss, A.L., & Menon, V. (2004) Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: Evidence from functional MRI. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 101*, 4637-4642.

Gruart, A. (2008). ¿Porqué es el cerebro humano tan bueno para aprender y pensar? En F. Muñoz Gutiérrez (Dir.), *El ser humano* (Vol. 2., Cap. 15). Córdova, España: Biblioteca BenRosch de Divulgación Científica y Tecnológica.

Gu, S. et al. (2015) Controllability of structural brain networks. *Nat Commun. 6:8414*. doi: 10.1038/ncomms9414.

Herbert, J. (2015). *Craking the Skull Open*. Obtenido de https://aeon.co/essays/why-can-t-we-treat-mental-illness-by-fixing-the-brain

Hirsh, E. C., Vyas, S., & Hunot, S. (2012). Neuroinflammation in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders, 18*(1), 210-212. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S1353-8020(11)70065-7

Horn, A., Ostwald, D., Reisert, M., & Blankenburg, F. (2013). The structural-functional connectome and the default mode network of the human brain. *NeuroImage 13*, 1053-8119.

Horovitz, S.G., et al. (2009). Decoupling of the brain's default mode network during deep sleep. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 106*,11376-11381.

Hutchison, R.M., Mirsattari, S.M., Jones, C.K., Gati, J.S., & Leung, L.S. (2010). Functional networks in the anesthetized rat brain revealed by independent component analysis of restingstate FMRI. *J Neurophysiol 103*, 3398-3406.

Kelley, J. M., Kraft-Todd, G., Schapira, L., Kossowsky, J., & Riess, H. (2014). The Influence of the Patient-Clinician Relationship on Healthcare Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *PLoS ONE 9*(4), 1-7. doi:10.1371/journal.pone.0094207

Kennedy, D.P., & Courchesne, E. (2008).The intrinsic functional organization of the brain is altered in autism. *Neuroimage 39*,1877-1885.

Liang, Z., King, J., & Zhang, N. (2011) Uncovering intrinsic connectional architecture of functional networks in awake rat brain. *J. Neurosci., 31*, 3776-3783.

Liu, Y.Y., Slotine, J.J., & Barabási, A.L. (2011). Controllability of complex networks. *Nature 473*, 167-173.

Lu, H., Zou, Q., Gu, H., Raichle, M.E., Stein, E.A., & Yang, Y. (2012). Rat brains also have a default mode network. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 109(10)*, 3979-84.

Mangas, A., et al. (2007). Immunocytochemical visualization of D-glutamate in the rat brain. *Neuroscience 144(2)*,654-64.

Manso, B., et al. (2014) Immunohistochemical mapping of pro-opiomelanocortin- and pro-dynorphin-derived peptides in the alpaca (Lama pacos) diencephalon. *Journal of Chemical Neuroanatomy 59–60*, 36–50.

Marcos, P., et al. (2013) Mapping of tyrosine hydroxylase in the diencephalon of alpaca (Lama pacos) and co-distribution with somatostatin-28(1-12). *Journal of Chemical Neuroanatomy 50–51*, 66–74.

Marcos, P., Arroyo-Jimenez, M.M., Lozano, G., Aguilar, L.A., & Coveñas, R. (2011) Mapping of tyrosine hydroxylase in the alpaca (Lama pacos) brainstem and colocalization with CGRP. *Journal of Chemical Neuroanatomy 41*, 63-72.

McMullin, E. (1984). A Case for Scientific Realism. En J. Leplin (Ed.), *Scientific Realism*. Berkeley, CA: University of California Press.

Morgado, I. (2005). Psicobiología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes. *Rev. Neurol., 40*, 289-297.

Nature Publishing Group. (2015). Mind Meld: Interdisciplinary science must break down barriers between fields to build common ground. *Nature News, 525*.

Nissani, M. (1997) Diez Aplausos por la Interdisciplinaridad. *Social Science Journal 34 (2),* 201-216.

Ortiz, T., Poch-Broto, J., Requena, C., Santos, J.M., Martínez, A., Barcia-Albacar, J.A. (2010). Neuroplasticidad cerebral en áreas occipitales en adolescentes ciegos. *Rev. Neurol., 50 (Supl. 3),* S19-S23.

Petersen, S.E., Mier, H.V., Fiez, J.A., & Raichle, M.E. (1998). The effects of practice on the functional anatomy of task performance. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 95*, 853-860.

Power, J.D., Schlaggar, B.L., Lessov-Schlaggar, C.N., & Petersen, S.E. (2013). Evidence for hubs in human functional brain networks. *Neuron 79,*798-813.

Purves, D. et al. (2007). *Neurociencia* (3ª. Ed.) Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Raichle, M.E., et al. (1994) Practice-related changes in human brain functional anatomy during nonmotor learning. *Cerebr. Cortex 4*, 8-26.

Raichle ME, et al. (2001) A default mode of brain function. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA 98,* 676-682.

Reátegui, N. (2012). Guía De Análisis De Movimiento Patológico Para Evaluación Post Tratamiento Quirúrgico De Fractura De Fémur, Tesis De Licenciatura. Lima: Pontificia Universidad Católica Del Perú.

Redmond, E. (2012). Using Monkeys to Understand and Cure Parkinson Disease. *Hastings Center Report, 42* (6).

Rilling, J.K., et al. (2007) A comparison of resting-state brain activity in humans and chimpanzees. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 104,*17146-17151.

Riofrío, W., & Aguilar, L.A. (2006) Different Neurons Population Distribution Correlates With Topologic-Temporal Dynamic Acoustic Information Flow. *InterJournal Complex Systems, 1619*.

Rothstein, T. (2010). La Cara Oculta de la Enfermedad de Parkinson. *Mente y Cerebro, 40.*

Rotter, J.B. (1964). *Psicología clínica*. Buenos Aires: UTEHA.

Ruiz, S., Buyukturkoglu, K., Rana, M., Birbaumer, N., & Sitaram, R. (2014). Real-time fMRI brain computer interfaces: self-regulation of single brain regions to networks. *Biol. Psychol., 95*, 4-20.

Searle, J. (1995). *The Construction of Social Reality*. New York: The Free Press.

Sierakowiak, A. et al. (2015). Default Mode Network, Motor Network, Dorsal and Ventral Basal Ganglia Networks in the Rat Brain: Comparison to Human Networks Using Resting State-fMRI. *PLoS ONE 10(3)*,e0120345. doi:10.1371/journal. pone.0120345.

Stewart, M. (1995). Effective physician-patient communication and health outcomes: A review. *Canadian Medical Association Journal, 152*(9), 1423-1433. Recuperado de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7728691

Vélez, J., Moreno, A., Sánchez, A., & Sánchez-Marín, J.L. (2003). *Visión por computador.* Madrid: Universidad Rey Juan Carlos de Madrid.

Vincent, J.L., et al. (2007) Intrinsic functional architecture in the anaesthetized monkey brain. *Nature 447,* 83-86.

Weiskrantz, L. (1986). Blindsight. A case study and implications. *Oxford Psychology Series, (12*). Oxford: Oxford University Press.

Weiskrantz, L. (1997). *Consciousness lost and found. A neuropsychological exploration*. Oxford: Oxford University Press.

Zukerfeld, R., & Zonis de Zukerfeld, R. (Eds). (1999). *Psicoanálisis, Tercera Tópica y Vulnerabilidad Somática*. Buenos Aires: Lugar.