

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

EFFECTOS DE LA MALNUTRICIÓN HIPOPROTEÍNICA SOBRE EL TIEMPO DE
ESPECIFICACIÓN DE LA CORTEZA SOMATOSENSORIAL PRIMARIA DE LA
RATA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA
PRESENTA

SANDRA ROBLES LÓPEZ

283092

Director de Tesis
DRA. SOFÍA DÍAZ MIRANDA
Y
Asesor de Tesis
DR. GABRIEL GUTIERREZ OSPINA

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**EFFECTOS DE LA MALNUTRICIÓN HIPOPROTEÍNIC A SOBRE EL TIEMPO DE
ESPECIFICACIÓN DE LA CORTEZA SOMATOSENSORIAL PRIMARIA DE LA
RATA**

Sandra Robles López

Centro de Neurobiología

Universidad Nacional Autónoma de México

El presente trabajo de tesis fue realizado en el Centro de Neurobiología de la UNAM, bajo la dirección de la Dra Sofía Díaz Miranda y el Dr Gabriel Gutierrez Ospina

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Sofia Díaz Miranda por darme la oportunidad de formar parte de su maravilloso equipo de trabajo.

A los sinodales por sus valiosos comentarios y sugerencias a mi trabajo

A Rafa por su siempre amable disposición y gran apoyo técnico y profesional.

A mis compañeras de Laboratorio: Araceli, Azu, Cecy Diana, Eileen, Helga, Ivett, Norma, Rosy y Tonantzin, por brindarme su amistad y su paciencia. Además por la fortuna de haberlas conocido.

A Manuel Mandujano por su tiempo, su preocupación y sobre todo por seguir siendo mi amigo.

A Gaby, Maricela y Tarsicio, por su sincera amistad.

A Gabriel Gutiérrez Ospina por creer en mí y darme mucha de la confianza perdida. Por sus inapreciables enseñanzas y generosidad, por considerarme su amiga, y lo más importante: por ser simplemente extraordinario.

Al Ing. Jorge Mendieta por el apoyo y asesoría en las estrategias estadísticas utilizadas en el presente trabajo que lograron embellecer (En mi concepción muy personal) el presente trabajo. También quiero agradecerle todo su tiempo, su infinita paciencia, pero sobre todo, a pesar de esa mente computarizada, por el amor inegable que demuestra.

Y a todos aquellos que de alguna manera contribuyeron a ser lo que soy.

DEDICATORIAS

Con cariño, gratitud y respeto:

A mis padres: Aristeo Robles y Raquel López

A mis hermanos: Blanca, Adriana, Arturo y Raquel.

A todos mis sobrinos (que son muchos)

A mis amados hijos: Ricardo, Cristian y Paulina

A mi esposo Coke porque en gran parte éste es también un logro suyo.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2,3
ANTECEDENTES	
Anatomía funcional de la neocorteza	3
Vías aferentes y eferentes neocorticales	4
Aferencias	4
Eferencias	4,5
Histofisiología de la Neocorteza Cerebral: Generalidades	5-7
Citología neocortical	8-12
Neuroquímica neocortical	12-16
AcetilColina	12,13
Ácido gamma-amino butírico (GABA)	13
Ácido Glutámico	13
Otros aminoácidos neuroactivos	13,14
Catecolaminas	14
Serotonina	15
Otras aminas biogénicas	15

Somatostatina	15,16
Polipéptido intestinal vasoactivo (VIP)	16
Colecistoquinina (CCK)	16,17
Otros péptidos	17
Generalidades sobre el desarrollo del Sistema Nervioso	17-20
Corticogénesis	21,22
Histogénesis de la Neocorteza	22,24
El Sistema Somatosensorial de la rata	24
Generalidades estructurales del Sistema Somatosensorial	25-27
Generalidades sobre el desarrollo del Sistema Somatosensorial	27
Establecimiento de la topografía	27-28
Establecimiento de la somatotopía	28,29
Desnutrición y desarrollo cerebral	29-32
 HIPÓTESIS	 31
 OBJETIVOS	 31
 MATERIALES Y MÉTODOS	
Animales	34
Grupos experimentales	34,35
Obtención y procesamiento de las muestras	35
Obtención y análisis de los datos	36
Distribución de Weibull	37,38

RESULTADOS

Establecimiento de la topografía y somatotopía en animales control 39

Establecimiento de la topografía y somatotopía en animales desnutridos
Postnatalmente 39

Establecimiento de la topografía y somatotopía en el grupo desnutrido
Prenatal 39,40

Establecimiento de la topografía y somatotopía en animales desnutridos
Crónicos 40

DISCUSIÓN 41-47

CONCLUSIONES 47

REFERENCIAS 48-55

FE DE ERRATAS

Por una omisión involuntaria se excluyeron los agradecimientos para las dependencias y proyectos que a continuación se mencionan:

Este trabajo se realizó en el Centro de Neurobiología de la UNAM con el patrocinio de Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), proyecto No. IN209598. Así como de CONACYT, proyecto No. J28035N.

En la página en donde se presenta la gráfica de las pendientes de Weibull en el pie de figura se omitió el número de la gráfica. Por lo que debe decir Gráfica 3.

RESUMEN

El proceso de desarrollo cerebral procede en un marco temporal definido. No obstante que este hecho se conoce bien, se sabe poco acerca de los mecanismos que regulan la duración de los eventos del desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC). Esto tal vez se deba a la carencia de modelos experimentales que permitan su estudio. Así, en el presente trabajo, utilizamos el modelo de la malnutrición hipoproteínica para evaluar sus efectos sobre el calendario de especificación de la corteza somatosensorial primaria de la rata (S1). Se sabe que la desnutrición produce retardos en las curvas de generación, migración, maduración y diferenciación neuronal. En éste estudio se compara el tiempo de aparición de las columnas citoarquitectónicas (barriles) que constituyen a (S1) en ratas control y malnutridas.

Nuestros resultados muestran un retardo significativo de 3 días en la aparición de las columnas de S1 en animales sometidos a malnutrición crónica, y prenatal. En aquellos sometidos a malnutrición postnatal, el retardo fue de 1 a 2 días. Adicionalmente, nuestros resultados sugieren que la malnutrición no afecta a los distintos eventos del desarrollo de manera homogénea. En este caso la topografía fue más afectada que la somatotopía. Así, nuestro estudio permite validar el modelo de malnutrición en rata como método para explorar los mecanismos de regulación del tiempo de especificación cortical.

INTRODUCCION

Durante el desarrollo, la diferenciación fenotípica de una célula depende de su posición relativa con respecto a las células vecinas, así como del momento del desarrollo en el que se encuentre. En años recientes, se han mostrado evidencias sobre los mecanismos utilizados por las células para determinar su posición con relación a sus vecinas (i.e., información posicional). En contraste, los procesos por los cuales las células registran el paso del tiempo aún son poco claros. No obstante esto, estudios recientes sugieren que las células interpretan la duración de fluctuaciones en las concentraciones umbrales de ciertas moléculas como una medida de tiempo. Por ejemplo, en el invertebrado *Drosophila melanogaster* y en ratones se han descrito genes esenciales para la regulación de los ritmos circádicos. Estos genes dan origen a proteínas cuyas variaciones e interacciones intracitoplásmicas determinan la duración del ritmo circádico. Además, las mutaciones de cada uno de ellos modifican su periodo (Green, 1998 a y b; Hall, 1995).

Si bien ya se han identificado algunos genes y moléculas involucrados en la "percepción" celular del tiempo circádico, no se conocen aún los mecanismos que participan en dicho proceso durante los eventos del desarrollo. Esto se debe, en parte, a la carencia de modelos experimentales que permitan identificar los elementos constitutivos de los relojes celulares durante el desarrollo.

La malnutrición hipoproteínica y/o hipocalórica disminuyen la velocidad de proliferación, migración y maduración neuronal, además de prolongar el tiempo en el que cada uno de estos eventos se lleva a cabo. El resultado de este retraso general, es que en el cerebro algunos, si no todos, los eventos del desarrollo neuronal quedan inconclusos o maduran en tiempos inadecuados. En el presente trabajo evaluamos los efectos de la

malnutrición hipoproteínica sobre el calendario de especificación de S1 de la rata. Nuestra intención es desarrollar un modelo experimental que nos permita, en un futuro mediato, la identificación de factores celulares y moleculares responsables de modular el tiempo de especificación de la corteza cerebral.

ANTECEDENTES

Anatomía funcional de la neocorteza.

La corteza cerebral en los mamíferos esta dividida en distintas áreas: sensoriales, motora y de asociación (Fig.1). Las áreas sensoriales primarias y secundarias son responsables de recibir y procesar información unimodal proveniente de los órganos de los sentidos (i.e., visual, somestésica, gustativa, auditiva y olfatoria). La corteza motora genera los comandos que permiten la ejecución del movimiento voluntario. Por su parte, las cortezas multimodales o asociativas integran la información proveniente de distintas regiones cerebrales, incluyendo aquella transmitida desde las cortezas sensoriales primarias y secundarias, permitiendo la percepción y la consecuente modulación de las respuestas conductuales, motoras y cognitivas (Shepherd, 1994; Waite y Trace, 1995, Beatty, 1995).

malnutrición hipoproteínica sobre el calendario de especificación de S1 de la rata. Nuestra intención es desarrollar un modelo experimental que nos permita, en un futuro mediano, la identificación de factores celulares y moleculares responsables de modular el tiempo de especificación de la corteza cerebral.

ANTECEDENTES

Anatomía funcional de la neocorteza.

La corteza cerebral en los mamíferos está dividida en distintas áreas: sensoriales, motora y de asociación (Fig.1). Las áreas sensoriales primarias y secundarias son responsables de recibir y procesar información unimodal proveniente de los órganos de los sentidos (i.e., visual, somestésica, gustativa, auditiva y olfatoria). La corteza motora genera los comandos que permiten la ejecución del movimiento voluntario. Por su parte, las cortezas multimodales o asociativas integran la información proveniente de distintas regiones cerebrales, incluyendo aquella transmitida desde las cortezas sensoriales primarias y secundarias, permitiendo la percepción y la consecuente modulación de las respuestas conductuales, motoras y cognitivas (Shepherd, 1994; Waite y Trace, 1995, Beatty, 1995).

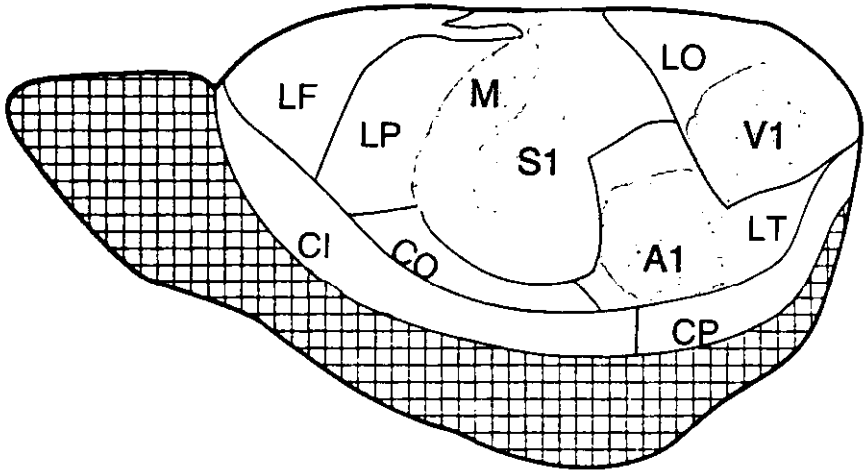


Figura 1. Vista lateral de la corteza cerebral de la ratona. Se muestran LF lóbulo frontal, LP lóbulo parietal, LT lóbulo temporal, LO lóbulo occipital, CO corteza orbital, CI corteza insular, CP corteza perirrinal, M corteza motora, S1 corteza somatosensorial primaria, A1 corteza auditiva y V1 corteza visual (Modificado de Zilles K, 1990; Beatty J, 1995).

Vías aferentes y eferentes neocorticales

Aferencias

Existen aferencias en la neocorteza denominadas cortico-corticales e intracorticales, y aquellas inter e intrahemisféricas, que relacionan estructural y funcionalmente áreas homólogas y heterólogas de la neocorteza (Killackey y Belford, 1979; Woolsey, 1990; revisado en Nieuwenhuys, 1994; Gutiérrez-Ospina, 1997). Además existen aferencias corticales provenientes de los distintos núcleos del tálamo dorsal que proyectan a porciones específicas o difusas en la neocorteza. Los núcleos del tálamo dorsal que proyectan hacia áreas específicas de la neocorteza se dividen a su vez en tres subgrupos: a) aquellos de relevo sensorial específico. b) los núcleos relacionados con mecanismos de control eferente vinculados a funciones motoras, y c) los núcleos involucrados con funciones integradoras. Las regiones talámicas que proyectan hacia la corteza de manera difusa son el núcleo medial y los núcleos intralaminares, que reciben información del sistema reticular ascendente activador, ubicado en el tallo cerebral (Killackey y Belford, op. cit.; Woolsey, 1990; Nieuwenhuys, op. cit., Waite y Trace, op. cit.). Otras aferencias corticales provienen de los núcleos del rafe dorsal y del *locus coeruleus* localizados en la sustancia gris periacueductal del mesencéfalo y el puente (Nieuwenhuys, op. cit; Waite y Trace, op. cit., Ganon, 1998; Butler y Hodós, 1996).

Eferencias

Las distintas regiones de la corteza cerebral envían proyecciones a una gran variedad de estructuras subcorticales. Las cortezas sensoriales primarias establecen contactos sinápticos recíprocos con cada uno de los núcleos talámicos de los que reciben

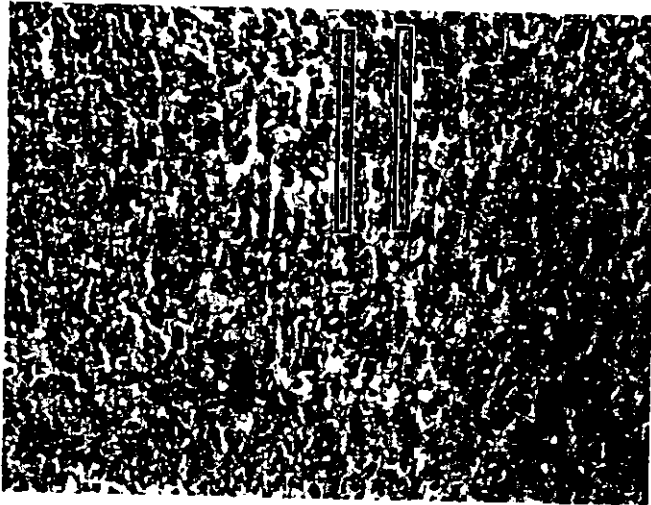
aferencias (i.e., eferencias cortico-talámicas). Así mismo, existen eferencias corticales que alcanzan a los ganglios basales y diversos núcleos a lo largo del tallo cerebral. Finalmente, fibras nerviosas que nacen de las capas profundas de la corteza cerebral motora, alcanzan las astas anteriores de la médula espinal formando el tracto cortico-espinal, responsable de enviar información que permite la ejecución de los movimientos voluntarios (Pearlman, 1985; Price, 1995; Nieuwenhuys, op. cit.).

Histofisiología de la Neocorteza Cerebral: Generalidades

La neocorteza es una estructura organizada verticalmente en columnas y horizontalmente en láminas de células (Fig.2). La organización vertical o columnar de la neocorteza (Fig.2A) fue descrita por Vernon Mountcastle (Mountcastle,1979) con ayuda de técnicas electrofisiológicas en los años 50's. Desde entonces un gran número de estudios anatómicos y electrofisiológicos han mostrado que las neuronas neocorticales están organizadas verticalmente en minicolumnas cuyas dimensiones se encuentran entre los 35 a 60µm de diámetro (Leise, 1990). Estas minicolumnas corren paralelas entre sí a lo largo de toda la extensión neocortical, y desde la profundidad hasta su superficie. Cada minicolumna representa la unidad básica de procesamiento de información, por lo que el número y la densidad neuronales así como los patrones de conexión que se establecen entre las neuronas que las constituyen, son esencialmente similares en distintas áreas del cerebro de los mamíferos (Rockel et al.), 1980; Mountcastle, 1997). La estabilidad estructural de la minicolumna se traduce también en una estabilidad funcional y neuroquímica (Rakic, 1988; Swindale, 1990, Mountcastle, 1997) Las minicolumnas se

Organización columnar

A



Organización laminar

B

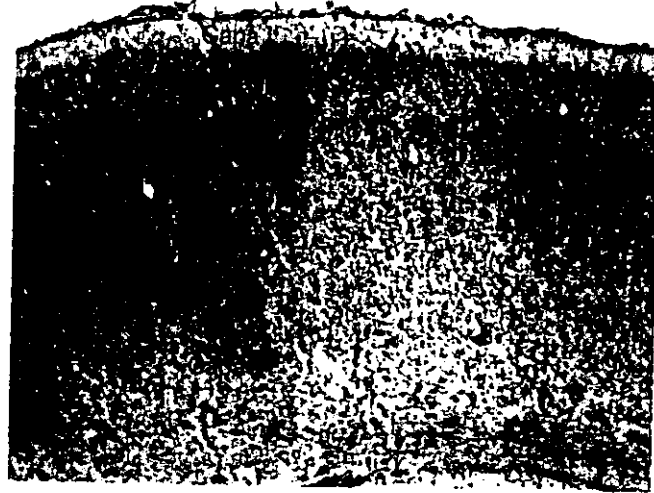


Figura 2. Fotomicrografías que muestran los dos tipos de organización de la neocorteza. En A se observa la organización columnar, presentandose marcadas dos minicolumnas. En B se muestra en un corte coronal la organización laminar cortical.

agrupan en entidades anatómico-funcionales de mayor tamaño (300-500µm) denominadas módulos (Woolsey y Van der Loos, 1970; Armstrong-James, 1975; Towe, 1975; Woolsey, op. cit.; Killackey, 1990; Mountcastle, op. cit.). Estos módulos reciben, integran, procesan, y generan un mismo tipo de información, que es especificada por sus conexiones aferentes y eferentes (Woolsey, op. cit.; Senft y Woolsey, 1991; Favorov y Kelly, 1994; Malach, 1994; Mouncastle, 1997).

La neocorteza esta también organizada horizontalmente en seis capas (Fig.2B). La capa I o molecular esta formada por fibras nerviosas provenientes de los núcleos talámicos inespecíficos y del tallo cerebral (*locus coeruleus* y del rafe dorsal). Además está formada por las dendritas de las neuronas piramidales de las capas corticales subyacentes, y de neuronas pequeñas. La capa II o granulosa externa se caracteriza por presentar un predominio de neuronas piramidales pequeñas que envían sus procesos dendríticos a la capa I, y sus axones hacia las capas más profundas. La capa III o piramidal externa está constituida por neuronas piramidales de tamaño intermedio cuyas dendritas proyectan hacia la capa I, mientras que sus axones hacen sinapsis homo- y heterotópicas con fibras ascendentes y tangenciales de los hemisferios cerebrales ipsi- y contralateral. Además, las colaterales axónicas de las neuronas de la capa III establecen contactos sinápticos con neuronas de la misma capa y de las capas profundas. Las capas II/III reciben aferencias de los núcleos del tallo cerebral (rafe dorsal y *locus coeruleus*). La porción profunda de la capa III también recibe aferencias escasas de los núcleos talámicos específicos. La capa IV o granulosa interna se caracteriza por presentar neuronas piramidales pequeñas que establecen conexiones intracorticales. El tipo neuronal predominante en esta capa sin embargo, es el denominado espinoza estelar, que

mantiene sus dendritas en la misma capa, y establece conexiones entre sí y con las células de las capas II/III. Estas neuronas son el blanco principal de los núcleos talámicos específicos y de áreas homotópicas del hemisferio contralateral. La capa V o piramidal interna se caracteriza por tener neuronas piramidales grandes. Esta capa recibe aferencias de las capas II/III homo- y heterotópicas, así como de los núcleos específicos talámicos y del tallo cerebral (*locus coeruleus* y *rafe dorsal*). La capa V cortical constituye la eferencia motora de la neocorteza por lo que los axones de sus neuronas piramidales proyectan al cuerpo estriado, al tallo cerebral, y a la médula espinal. Finalmente, la capa VI o de células polimórficas posee neuronas de tipos fusiforme y piramidal cuyo tamaño es variable. Esta capa recibe aferencias de las capas II/III homo- y heterotópicas, así como de los núcleos específicos talámicos y del tallo cerebral (*locus coeruleus* y *rafe dorsal*). La capa VI da origen a tractos nerviosos que establecen contactos sinápticos recíprocos con estructuras subcorticales (Purves y Lichman, 1985; Pearlman, op. cit.; Zilles, op. cit.; Shepherd, op. cit.; Sur y Coway, 1995; McConnell, 1995; Levit et al., 1997).

Todas las capas corticales poseen además un aporte fuerte de vasos sanguíneos que llega al alcanzar el 20% del área total. Así mismo, las capas poseen un porcentaje importante de células gliales y de interneuronas de tipo GABAérgicas (Purves y Lichman, 1985; Pearlman, op. cit.; Zilles, op. cit.; Shepherd, op. cit.; Sur y Coway, 1995; McConnell, 1995; Levit et al., 1997).

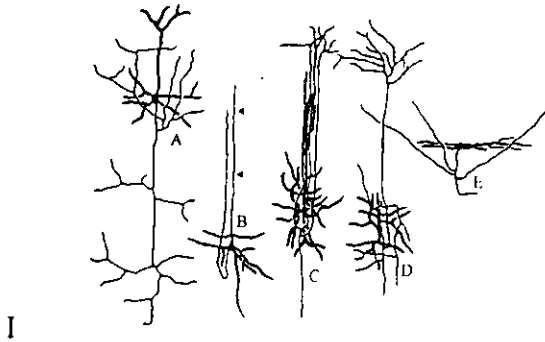
Citología neocortical

De manera general, las neuronas neocorticales pueden dividirse en dos subtipos: Las neuronas piramidales y las no-piramidales (Fig.3). Las neuronas piramidales, que constituyen un 70% de la población neuronal total cortical, poseen un cuerpo celular piramidal y sus procesos dendríticos emergen de los vértices. El axón puede salir de un tronco común con una dendrita o independientemente de la base del soma celular y distribuirse en zonas corticales ipsy- y contra laterales, así como en áreas subcorticales (Nieuwenhuys, op. cit.; Parnavelas y McDonald, 1983; Zilles, op. cit.). Las neuronas piramidales presentan contactos sinápticos asimétricos o excitatorios¹ que se observan distribuidos principalmente sobre sus espinas dendríticas. Este tipo neuronal ocupa predominantemente las capas II, III, V y VI de la corteza cerebral (Nieuwenhuys, op. cit.; Jacobson, 1991; Beatty, op. cit.).

Las neuronas no piramidales constituyen el 30% del total de las neuronas en la neocorteza, y se subdividen en interneuronas excitatorias e inhibitorias. El tipo celular más importante de interneurona excitatoria en la corteza de los mamíferos es el denominado estelar espinoso, que posee un cuerpo pequeño y dendritas que radian desde el mismo, ramificándose horizontal o verticalmente. El axón y sus colaterales establecen contactos asimétricos con neuronas estelares espinosas, localizadas en la misma capa, o con piramidales ubicadas en capas superficiales y profundas (Rockel et al.), op. cit.; Parnavelas y McDonald, op. cit.; Haydon y Zoran, 1994; Bourgeois, 1997). Las neuronas

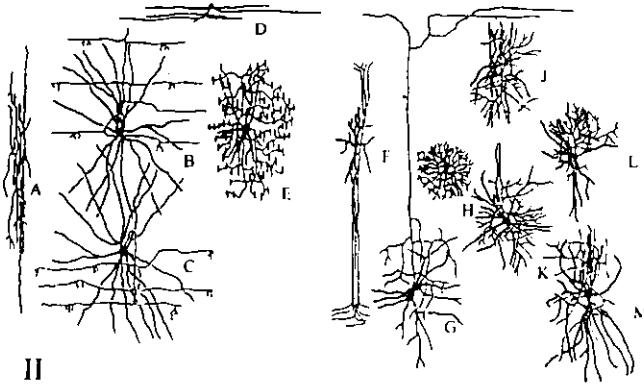
¹ Entre las neuronas de la corteza cerebral existen dos tipos de sinapsis, las asimétricas o tipo I y las simétricas o de tipo II. Las primeras se caracterizan por tener vesículas presinápticas esféricas que contienen generalmente neurotransmisores excitatorios (e.g., glutamato), y una banda de material electrodensito asociado a la membrana postsináptica. Las sinapsis simétricas o de tipo II, presentan material electrodensito en las membranas pre y postsinápticas, sus vesículas son planas. Este tipo de sinapsis son de naturaleza inhibitoria y liberan ácido gama-aminobutírico (Kandel, 1991).

Neuronas Piramidales



I

Neuronas no Piramidales



II

Figura 3. Dibujo en cámara lúcida de los diferentes tipos de neuronas presentes en la neocorteza de la rata. (I, A y C) Neuronas piramidales pequeñas de axón corto, típica de la corteza somatosensorial (S1), (I, B) neurona piramidal pequeña de la corteza estriada. (I, D y E) neuronas estelares espinosas de la corteza estriada. (II, A) Neurona no piramidal, bipolar de la corteza visual, (II, B y C) neuronas no piramidales en canasta, (II, D) neurona no piramidal la primera capa de la neocorteza, (II, E) neurona no piramidal tipo candelero, (II, F) neurona no piramidal tipo doble penacho, (II, G) neuronas de Martinotti de S1, (II, H) neurona tipo glia de S1, (II, J) neurona no piramidal multipolar de S1, (II, K) neurona multipolar de S1, (II, L) neurona estelar de la corteza visual, (II, M) neurona estelar de la corteza visual primaria (Modificado de Nieuwenhuys, 1994).

estelares espinosas se localizan exclusivamente en la capa IV, y son el blanco más importante de las aferentes talámicas provenientes de los núcleos específicos (Jones, 1983; Parnavelas y McDonald, op. cit.). Otro grupo de células excitatorias neocorticales está formado por interneuronas bipolares que muestran un cuerpo en forma de huso y ramas dendríticas lisas o con escasas espinas orientadas radialmente. Los axones de las interneuronas bipolares excitatorias se ramifican localmente estableciendo sinapsis asimétricas axo-dendríticas que posiblemente refuerzan a las aferentes excitatorias talamo-corticales. Estas células están presentes en distintas capas corticales, y parecen recibir aferencias de las fibras tálamocorticales y colaterales de las neuronas piramidales (Nieuwenhuys, op. cit.; Jones, op. cit.; Price, op. cit.).

La corteza cerebral posee además de las neuronas anteriormente descritas, una población de interneuronas inhibitorias no piramidales que poseen dendritas libres de espinas o con un número de espinas muy reducido (Nieuwenhuys, op. cit.). Sus axones nunca dejan la corteza, y sus colaterales axónicas se distribuyen localmente estableciendo contactos sinápticos simétricos sobre sus blancos postsinápticos. Aunque existen distintos subtipos de interneuronas inhibitorias, virtualmente todas ellas reciben contactos axosomáticos simétricos y asimétricos, liberan ácido gama-aminobutírico (GABA) como el neurotransmisor principal, y provienen de dos familias de precursores

Describiremos a continuación los subtipos de interneuronas inhibitorias:

- a) Las neuronas en canasta son células multipolares con dendritas poco ramificadas que emergen del cuerpo de forma radial. Su axón puede ascender o descender entre las capas corticales, dando origen a colaterales que forman un plexo terminal alrededor de los cuerpos y sobre las porciones proximales de las dendritas de las

neuronas piramidales y de otras células en canasta. Estas células son inmunoreactivas a GABA y a paralbúmina (una de las proteínas que participan en los procesos de amortiguamiento del calcio intracelular). Las neuronas en canasta superficiales parecen recibir aferencias intracorticales y tálamo-corticales, además de fibras originadas en las neuronas piramidales, estelares espinosas, y de doble penacho. Se desconoce aún el origen de las aferencias que alcanzan a las neuronas en canasta, localizadas en las capas profundas de la neocorteza (Nieuwenhuys, op. cit.).

- b) Las neuronas en candelero son células multipolares presentes en las capas II y V. Su característica anatómica principal es que poseen un axón que genera un plexo profuso de ramas terminales orientadas en ángulos verticales, sobre los segmentos iniciales de los axones de las neuronas piramidales y estelares espinosas. Estas neuronas presentan inmunoreactividad a GABA, paralbúmina y factor liberador de corticotropina. A la fecha, no se cuenta con información del origen de las aferencias que llegan a este tipo de células (Nieuwenhuys, op. cit.).
- c) Las neuronas con doble penacho se localizan en las capas II y III, y presentan un árbol dendrítico bifurcado en el eje vertical. Su axón genera dos plexos de colaterales largos orientados de manera radial, que cruzan la mayor parte de las capas neocorticales. Las ramas terminales de los axones de estas células establecen contactos sinápticos con las espinas y troncos principales de las dendritas basales, y con las ramas oblicuas de las dendritas apicales de las neuronas piramidales. Así mismo, establecen contactos con los elementos postsinápticos de otros subtipos de neuronas no piramidales como son las neuronas en canasta. Si bien las neuronas con

doble penacho contienen GABA, estas células son heterogéneas desde el punto de vista neuroquímico. Así, estudios de inmunocitoquímica han mostrado que subpoblaciones de estas neuronas contienen takinina, colecistoquinina, y calbindina 28 (Nieuwenhuys, op. cit.).

d) Las neuronas horizontales presentan unas cuantas dendritas largas que siguen una ruta paralela a la superficie de la corteza. Sus axones largos y poco ramificados se extienden a lo largo de la superficie cortical llegando a alcanzar una longitud considerable. Estos axones establecen contactos sinápticos con las porciones distales de las dendritas apicales de las neuronas piramidales (Nieuwenhuys, op. cit.).

e) Las neuronas de Martinotti son células multipolares o en doble penacho que se observan en las capas corticales V y VI. Su característica distintiva es que presentan un axón ascendente que da origen a colaterales horizontales a lo largo de su trayecto hacia la capa I. Así mismo, al inicio de su trayecto, los axones de las neuronas de Martinotti dan origen a ramas terminales que generan un plexo local muy profuso. Si bien se sabe muy poco sobre sus relaciones sinápticas, se ha sugerido que las neuronas de Martinotti reciben aferencias de las neuronas piramidales superficiales y que establecen contactos eferentes con las neuronas piramidales profundas y superficiales (Nieuwenhuys, op. cit.)

f) Las neuronas neurogliformes presentan un cuerpo pequeño del cual emergen numerosas dendritas cortas y sinuosas. Sus axones se ramifican de manera profusa alrededor del soma. Si bien este tipo celular está distribuido de manera más o menos homogénea en todas las capas corticales, es predominante en la capa IV en las

cortezas sensoriales, en especial de primates. Las neuronas neurogliformes establecen contactos recíprocos con las neuronas estelares espinosas y reciben aferencias tálamo-corticales específicas (Nieuwenhuys, op. cit.).

- g) Otras interneuronas inhibitorias, denominadas como elementos 11 a 14, se caracterizan por ser neuronas estelares cuyas dendritas poseen o no espinas. El elemento 11 se sitúa en la capa II, recibe aferentes excitatorias de las neuronas bipolares y establece contactos inhibitorios con neuronas piramidales superficiales. El elemento 12, situado en la capa IV, recibe aferencias excitatorias tálamo-corticales y establece contactos inhibitorios sobre las neuronas piramidales y bipolares. El elemento 13 se localiza también en la capa IV, y recibe aferencias tálamo-corticales y colaterales axónicas de las neuronas piramidales y en canasta. Sus axones ascendentes establecen contactos sinápticos con las neuronas piramidales superficiales. Finalmente, el elemento 14 se localiza en la región alta de la capa V, recibe aferencias de fibras tálamo-corticales y establece contacto con las neuronas piramidales profundas (Nieuwenhuys, op. cit.).

Neuroquímica neocortical (Fig.4)

Acetil-Colina.

Las aferencias colinérgicas provenientes del núcleo magnocelular del cerebro anterior se distribuyen ampliamente en distintas regiones y capas corticales, su densidad parece ser mayor en la capa V y en las capas superficiales corticales. Las respuestas excitatorias de las neuronas corticales, especialmente piramidales, a acetil-colina están mediadas por receptores muscarínicos y son moduladas por norepinefrina, dopamina y

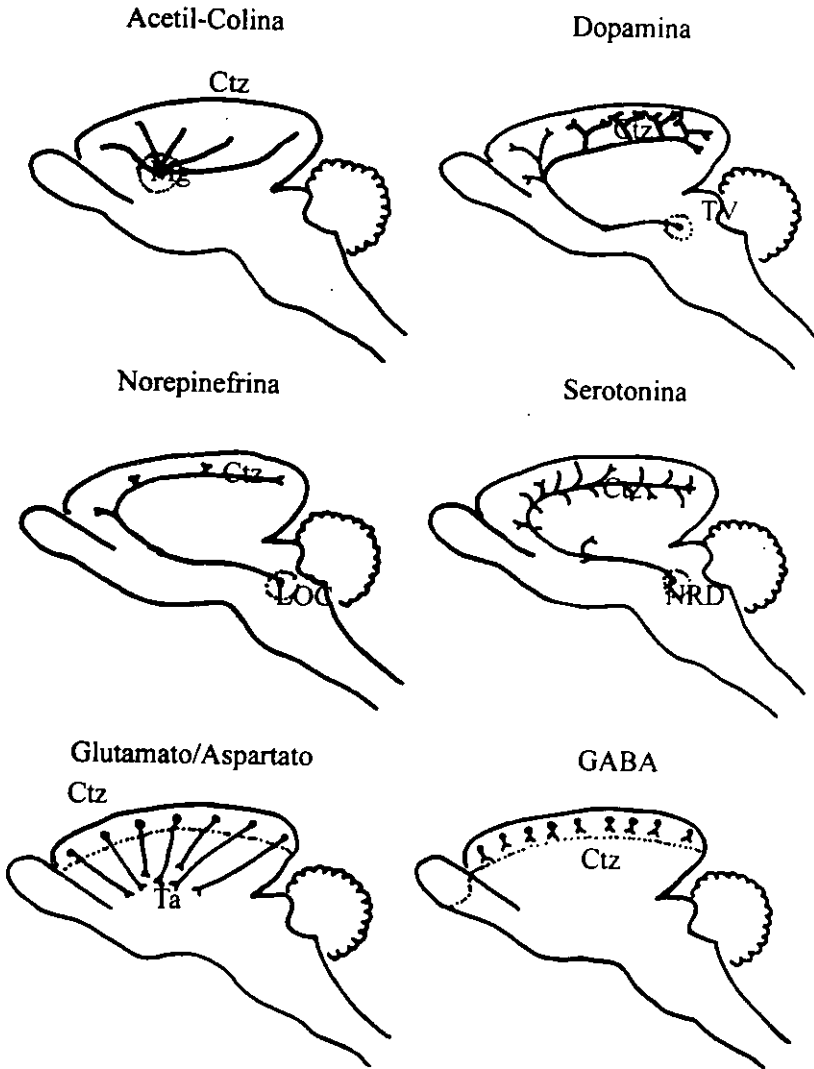


Figura 4. Vistas sagitales esquemáticas del cerebro de rata que muestran la distribución de las fibras aferentes catecolaminérgicas, dopaminérgicas, norepinérgicas, serotoninérgicas, glutamatergicas/aspartatérgicas y GABAérgicas. (Ctz) neocorteza, (Mg) núcleos magnocelulares, (TV) área tegmental ventral, (LOC) núcleo *locus coeruleus*, (NRD) núcleo rafe dorsal, (Ta) tálamo, (Modificado de Salas M ; et al, 1998).

serotonina. Se ha documentado que la liberación de acetil-colina cortical modula la liberación de distintos péptidos producidos en las neuronas corticales, entre los que destaca la somatostatina (Parnavelas y McDonald, op cit.).

Ácido gamma-amino butírico (GABA)

El GABA es el neurotransmisor inhibitorio más importante en la neocorteza. La principal fuente de GABA en la neocorteza son las interneuronas piramidales tipo II y no-piramidales bipolares que se encuentran distribuidas homogéneamente en las distintas regiones y capas corticales. No obstante esta uniformidad general, existe un ligero predominio de terminales y neuronas inmunoreactivas a GABA en las capas superficiales de la neocorteza (i.e., capas I-IV) (Parnavelas y McDonald, op. cit.).

Ácido Glutámico

El ácido glutámico es el principal neurotransmisor excitatorio de la neocorteza. Se produce localmente por neuronas piramidales y no-piramidales distribuidas en todas las capas corticales. No obstante esta distribución general, se ha reportado un predominio de neuronas marcadas inmunocitoquímicamente para ácido glutámico en las capas IV-VI (Parnavelas y McDonald, op. cit.). Una fuente adicional de glutamato en la neocorteza la constituyen las aferentes talámicas provenientes de los núcleos específicos

Otros aminoácidos neuroactivos

Diversos estudios anatómicos y fisiológicos han mostrado la presencia, liberación

y captura de ácido aspártico y taurina por neuronas y células gliales corticales. Los tipos neuronal y glial responsables de producir ambos aminoácidos no se han identificado con precisión. Si bien las funciones que desempeñan ambos aminoácidos son aún motivo de controversia, se ha propuesto que la taurina pudiera jugar un papel importante en el desarrollo de la corteza cerebral pues su concentración disminuye con la edad (Parnavelas y McDonald, op. cit.).

Catecolaminas

Las fibras aferentes adrenérgicas corticales nacen de neuronas localizadas en el *locus coeruleus*. La densidad de inervación adrenérgica varía de manera significativa al comparar distintas capas y áreas neocorticales. Por ejemplo, en algunas especies de mamíferos, la corteza visual muestra una densidad de inervación mayor en las capas I-III, mientras que en S1 la mayor densidad se encuentra en las capas profundas V y VI. Las aferentes adrenérgicas forman sinápsis axo-dendríticas, y sus acciones sobre las células corticales son mediados por receptores alfa y beta adrenérgicos. Los receptores beta tienen una distribución postsináptica mientras que los receptores alfa se han observado pre y postsinápticamente. Estudios de unión han mostrado que los receptores adrenérgicos se concentran en las capas superficiales de la corteza (Parnavelas y McDonald, op. cit.). Recientemente se ha demostrado la participación de las fibras adrenérgicas en los procesos de plasticidad funcional cortical durante el desarrollo y en la edad adulta a través de ejercer diversas acciones neurotróficas y quizás modulando la liberación local de GABA (Levin et al., 1988, Land et al., 1995, Micheva y Beaulieu, 1997)

Serotonina

Las vías serotoninérgicas se originan de neuronas localizadas en los núcleos lateral y medial del rafe dorsal en la formación pontina. Estas fibras ascienden a la corteza a través del tracto medial del cerebro anterior e inervan "en pasant" (de paso) de manera difusa a la corteza desde regiones anteriores a posteriores. Si bien existen pequeñas variaciones en el patrón de inervación serotoninérgica al comparar distintas capas y regiones corticales en diferentes especies animales, su densidad y distribución espacial son homogéneas a lo largo de la neocorteza. La serotonina modula la actividad de las neuronas corticales (e.g., decrece su actividad espontánea) mediante la activación de receptores del tipo 5HT1A y 5HT2B. Por otro lado, se le ha atribuido un papel neurotrófico, independiente de su acción neuromoduladora, durante el desarrollo cortical (Gutiérrez-Ospina et al., comunicación personal).

Otras aminas biogénicas.

Diversos estudios han mostrado la presencia de dopamina e histamina, así como de algunos de sus receptores en la corteza cerebral. La dopamina se encuentra, principalmente, en regiones frontales y áreas límbicas, mientras que la histamina se distribuye de manera predominante en regiones rostrales y temporales de la corteza (Parnavelas y McDonald, op. cit.).

Somatostatina.

Neuronas no piramidales en penacho y multipolares inmunoreactivas a

somatostatina se han observado en las capas II-VI en distintas regiones corticales. Los efectos de la somatostatina sobre la actividad neuronal neocortical son diferentes en diversas poblaciones celulares. Es claro, sin embargo, que este péptido es un neuromodulador de la actividad cortical, y su liberación está a su vez regulada por GABA, catecolaminas y acetilcolina (Parnavelas y Mc Donald, op cit)

Polipéptido intestinal vasoactivo (VIP, por sus siglas en inglés).

Neuronas inmunopositivas a VIP se encuentran distribuidas entre las capas II-VI, aunque más concentradas en las capas II y III neocorticales. Estas células constituyen dos poblaciones de neuronas, una de ellas bipolares dispuestas radialmente, y la otra, multipolares pequeñas localizadas predominantemente en las capas II y VI. El VIP posee acciones excitatorias sobre la actividad neuronal neocortical, a través de activar receptores ligados a adenilato ciclasa (Parnavelas y Mc Donald, op cit.)

Colecistoquinina (CCK)

Estudios anatómicos han mostrado que cerca del 1% de la población de neuronas no piramidales en penacho y multipolares pequeñas muestran inmunoreactividad para CCK. Estas células se observan en todas las capas corticales, aunque predominan en las capas II y III. Sus axones forman plexos finos que se distribuyen localmente en las mismas capas corticales. También se ha documentado la presencia de inmunorreactividad para CCK en neuronas horizontales de la capa I. Existen diversas variantes moleculares de CCK en el cerebro. Las funciones de dichas variantes sobre la excitabilidad neuronal cortical están siendo evaluadas sin que se hayan alcanzado aún resultados consistentes

Finalmente, estudios autoradiográficos han mostrado que la mayor concentración de receptores para CCK se observa en las capas IV y VI (Parnavelas y McDonald, op cit)

Otros péptidos

Estudios inmunocitoquímicos han mostrado la presencia del polipéptido pancreático aviar, de la neurotensina, del neuropéptido Y, de la sustancia P, de la motilina, de la metionina-encefalina, de la bombesina y dos de las variantes de la hormona estimulante de melanocitos. La identificación de los tipos celulares que producen cada uno de estos péptidos y la distribución de sus receptores está en camino, así como la caracterización de sus funciones (Parnavelas y McDonald, op. cit.).

Generalidades sobre el desarrollo del sistema nervioso

Después de la fecundación, y de la formación del huevo o cigoto, los pronúcleos de los gametos masculino y femenino se fusionan, su ADN se duplica, y se da inicio a una serie de divisiones celulares controladas por factores solubles citoplásmicos, que dan origen secuencialmente a entidades multicelulares denominadas, en orden cronológico, mórula, blástula y gástrula. Durante la transición de blástula a gástrula, ocurren una serie de movimientos morfogénéticos y migraciones celulares que permiten la formación, primero, de un embrión bidimensional bilaminar, y más tarde, de un embrión bidimensional trilaminar en el que se pueden identificar tres capas de tejido: el endodermo, el mesodermo y el ectodermo (Fig.5 A-E). A lo largo del desarrollo

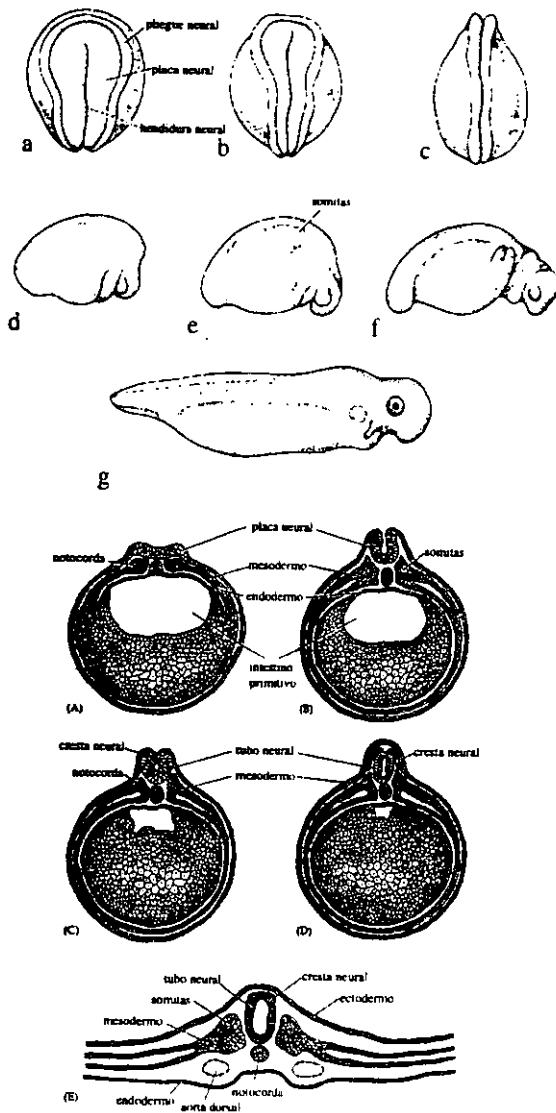


Figura 5. Vista superficial de un embrión en etapas de neurulación y estados más avanzados, en un embrión completo (a-c) y en cortes coronales del mismo. Estados de desarrollo más avanzados (d-g). Vista coronal de la formación del tubo neural (A-D). Vista coronal de un embrión que muestra la relación del tubo neural con las demás estructuras (E) (Modificado de Purves D., 1985).

embrionario subsecuente, y a través de distintos mecanismos celulares y moleculares, el endodermo da origen a los distintos órganos que constituyen a los aparatos digestivo y respiratorio. El mesodermo originará a los músculos esqueléticos, los huesos, al tejido conectivo, y a los sistemas cardiovascular y urogenital. El sistema nervioso y la piel se forman a partir del ectodermo (Purves y Lichman, op cit.; Jacobson, op cit.; Gilbert 1991; Hatten y Heintz, 1999).

La evidencia que indica el inicio de la formación del sistema nervioso es un engrosamiento medio-longitudinal que corre sobre la cara dorsal del endodermo (Fig.5 a-f). Este engrosamiento, conocido como la placa neural, resulta del incremento en la altura de las células del ectodermo a lo largo del eje longitudinal del embrión. Experimentos recientes han mostrado que el cambio en la altura de las células ectodérmicas se debe a un proceso inductivo en el que participan moléculas producidas en el mesodermo y el ectodermo. El ectodermo produce constitutivamente proteínas morfogenéticas del hueso que confieren a sus células una tendencia a transformarse en piel. Por otro lado, el mesodermo cordal parece producir, de una forma restringida en tiempo y espacio, proteínas (e.g., folistatina, noggina, y condrina) capaces de bloquear a las proteínas morfogenéticas del hueso. Dicho bloqueo permite la progresión, en las células ectodérmicas, del programa de diferenciación neural (Liem et al., 1995)

Una vez formado el primordio de la placa neural, este sufre cambios significativos en su longitud y grosor. La placa crece en sentido anteroposterior, siguiendo el crecimiento longitudinal del embrión, como resultado de la adición de nuevas células. En el eje horizontal, sin embargo, la placa neural disminuye sus dimensiones debido, por un lado, a un reacomodo de las células del neuroectodermo, y por otro, a un

incremento mayor de la altura celular acompañado de un adelgazamiento del citoplasma. En paralelo a estos cambios, el embrión, y por tanto la placa neural, se doblan ventralmente, y los bordes de la placa se elevan formando pliegues que corren longitudinalmente y que son más altos en la parte anterior del embrión (Fig.5 A-E) Durante este proceso, las células cilíndricas del neuroepitelio sufren una constricción apical, adquiriendo una forma semejante a una botella (Smith y Schoenwolf, 1997). Esta modificación se acompaña del engrosamiento de los bordes y la generación del surco o canal neural. En estadios subsecuentes del desarrollo, los bordes del canal neural se acercan por su extremo dorsal debido a la reducción en las dimensiones de las células neuroectodérmicas localizadas en el tercio medio de la pared del canal, y al crecimiento progresivo latero-medial del ectodermo epidérmico. Finalmente, los bordes se unen, la piel se separa del neuroectodermo y se fusiona, y se crean dos repliegues dorsales que corren a lo largo del eje longitudinal paravertebral del embrión que se conocen como las crestas neurales. Las células de estas regiones darán origen a algunas de las estructuras que constituyen el sistema nervioso periférico, la médula adrenal y al sistema neuroendócrino difuso (Fujita y Kobayashi, 1978, Andrew, 1982; Hatten y Heintz, op cit.). Una vez que el canal se cierra, el sistema nervioso en desarrollo ha alcanzado la etapa de tubo neural (Baker y Schöeder, 1967)

Terminada la formación del tubo neural, este sufre dos flexiones y tres dilataciones como resultado de efectos hidrodinámicos y de los ciclos mitóticos asincrónicos. Dichas flexiones limitan tres grandes vesículas primarias (Fig.6a y b) denominadas, en sentido antero-posterior, el procéncéfalo (cerebro medio), el mesocéncéfalo (cerebro medio) y el rombocéncéfalo (cerebro posterior), (Kandel, et al , 1991.

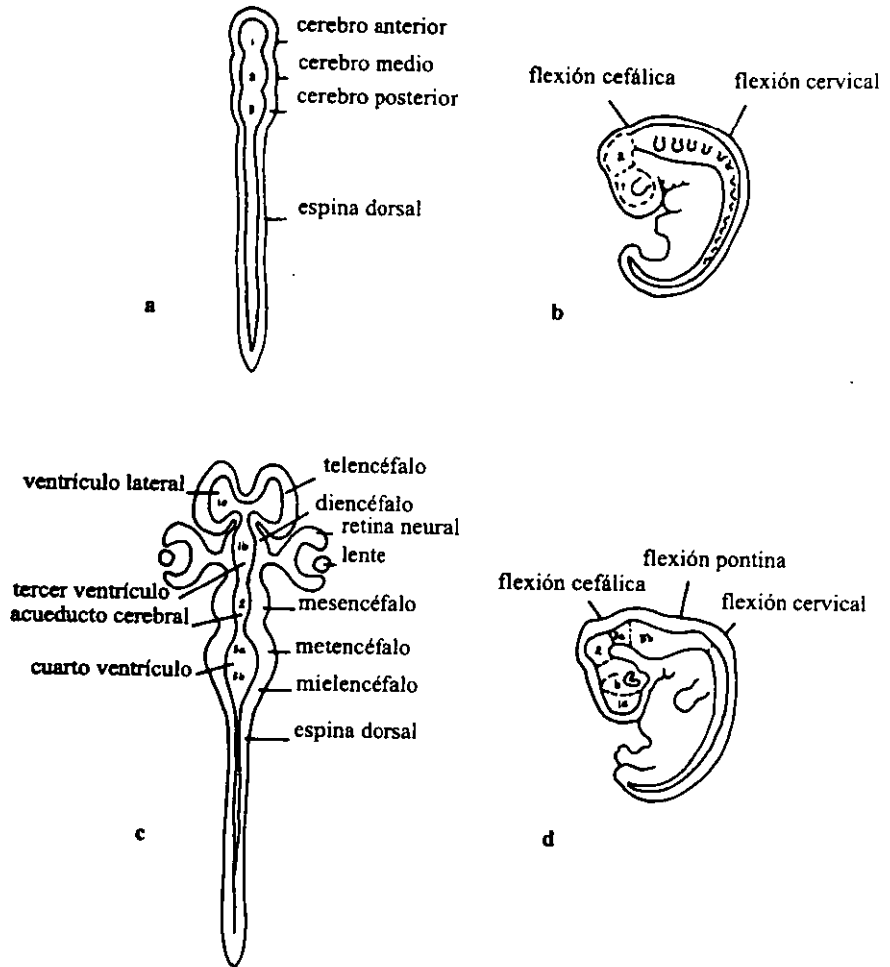


Figura 6. Representación diagramática de los diferentes estadios de la embriogénesis del Sistema Nervioso Central en mamíferos (Kandel, 1991).

Cowan, 1973; Cowan et al., 1984; Jacobson, 1991; Pansky et al., 1988; Hatten y Heintz, op. cit.). Como resultado de la adición de nuevas células y del consecuente incremento de la densidad celular del tubo neural, el procéncéfalo y el rombocéfalo se dividen cada uno en dos vesículas secundarias. Así, el procéncéfalo origina al telocéfalo y al diencéfalo, mientras que el rombocéfalo da lugar al metocéfalo y al mielocéfalo. Durante este proceso, el mesocéfalo no sufre modificación alguna. De esta forma quedan definidos los segmentos básicos del sistema nervioso (Fig.6c y d). Más tarde en el desarrollo, el telocéfalo origina a la corteza cerebral, los ganglios basales, el hipocampo y los bulbos olfatorios. El diencéfalo origina al tálamo, al hipotálamo, al subtálamo, las retinas y a los nervios y tractos ópticos (Jacobson, op. cit.; Pansky et al., op. cit.; Hatten y Heintz, op. cit.; Díaz-Cintra y Ortega, 1993). El mesocéfalo se mantiene como tal, mientras que el metocéfalo da origen al puente. El mielocéfalo origina a la médula oblongada. El cerebelo, de origen mixto, se forma a partir de dos estructuras que nacen en la región dorsal lateral de la unión entre el bulbo y el puente. Estas estructuras, conocidas como labios rómbicos, crecen en sentido latero-medial hasta fusionarse en la línea media dorsal del embrión (Pansky et al., op. cit.; Gilbert, op. cit.; Hatten y Heintz, op. cit.).

Si bien los eventos descritos anteriormente determinan los segmentos y diferenciación generales del embrión en desarrollo, actualmente se sabe que cada uno de estos eventos resulta de la expresión de una familia de genes homeóticos que los especifican dentro de un marco espacio-temporal (Struhl et al., 1992, Gruss y Walther, 1992).

Corticogénesis

La neocorteza deriva de la región dorsolateral de las vesículas telencefálicas. La primera evidencia de su formación ocurre como una evaginación del telencéfalo, alrededor del día embrionario (E) 14 en la rata. Hacia E15/16, la neocorteza está básicamente formada por el neuroepitelio que se encuentra en franca actividad mitótica, generando precursores y neuroblastos que más tarde migrarán para formar la placa cortical. Con base al grosor del neuroepitelio, durante esta edad se pueden distinguir dos gradientes de desarrollo neocortical. El primero de ellos en el plano antero-posterior, y el segundo sigue una dirección ventrolateral a dorsomedial. Así mismo, a esta edad se distinguen ya el primordio de la capa plexiforme y algunas de las primeras neuronas diferenciadas que formarán la placa cortical, futura sustancia gris neocortical (Gilbert, op. cit.; Sur y Cowey, op. cit.; McConell, op. cit.). En E17/18, las paredes de la corteza se han engrosado al aumentar el número de neuronas jóvenes en la placa cortical, y se inicia la formación de la capa IV (Killackey et al., 1983; Killackey, op. cit.; Kintner y Lumsden, 1999). Paralelamente, el grosor del neuroepitelio se reduce y aparecen campos transicionales de diferenciación celular conocidos como las zonas subventricular e intermedia. También convergen fibras nerviosas a lo largo de la cara interna de la corteza que darán origen a la cápsula interna (Bayer y Altman, 1991). En E18/19, el grosor del neuroepitelio está muy reducido en comparación con estadios previos, y los campos transicionales, así como la placa cortical han crecido considerablemente, siguiendo un gradiente en dirección ventrolateral-dorsomedial. Por debajo de la placa cortical aparece una banda de células que corre en dirección latero-dorsal conocida como la subplaca, en cuya cara interior se pueden observar las primeras fibras nerviosas que formarán el

cuerpo caloso (Bayer y Altman, op. cit.). Finalmente, entre E20/21, el neuroepitelio se ha adelgazado considerablemente y su actividad mitótica, aunque presente, también se ha reducido. La corteza cerebral ha ganado grosor a expensas de crecimiento continuo y rápido de los campos transicionales y de la placa cortical. El cuerpo caloso, por debajo de los hemisferios cerebrales, forma ya una estructura claramente discernible, al igual que la cápsula interna. Las primeras fibras interhemisféricas aparecen también a esta edad. Para E21 de desarrollo embrionario, la corteza ha adquirido su plan anatómico general, sus distintas áreas casi tienen todo su complemento de células, y empieza a diferenciarse hacia su forma adulta (Bayer y Altman, op. cit.; Gilbert, op. cit.; McConell, op. cit.; Kintner et al., op. cit.).

Histogénesis de la Neocorteza

La formación de las capas celulares que constituyen a la neocorteza resulta de la migración, predominantemente radial², de acuerdo a un patrón de organización minicolumnar, de clonas celulares que se disponen secuencialmente unas sobre otras siguiendo un gradiente de "adentro hacia afuera". Así, si bien la capa más superficial cortical, que dará origen a la capa I, es la primera en formarse, son las capas profundas VI y V de la corteza las que se desarrollan primero, seguidas, en orden de aparición, de las capas IV, III y II (Rakic, 1988, 1990; Rakic et al., 1991; Favorov y Kelly, op. cit.;

² Recientemente se ha mostrado que los neuroblastos migratorios también se desplazan tangencialmente una vez alcanzada la placa cortical en desarrollo. Esta forma de migración, sin embargo, no es el tipo predominante en la neocorteza de los mamíferos (O'Rourke, et al., 1992). Así mismo, se ha documentado que las células precursoras pueden desplazarse tangencialmente en la pared ventricular permitiendo la dispersión de clonas celulares lejos de su lugar de origen (Luskin, 1993; Lois y Alvarez-Buylla, 1994). También se ha documentado que algunas células neocorticales derivan, no de la porción del tubo neural correspondiente a los hemisferios cerebrales, sino a partir de los primordios de otras regiones telencefálicas (Anderson, et al., 1997.).

Malach, op. cit.; Mouncastle, 1997).

Las primeras células destinadas a formar la capa I aparecen alrededor del E13. Las células que darán origen a la capa VI empiezan a generarse en E14, alcanzan su pico de proliferación entre E15 y E16, y cesan su generación casi totalmente para E17. Las neuronas de la capa V inician su generación hacia E14, alcanzan su pico entre E15 y E17, y cesan su generación hacia E19. Finalmente, las neuronas que ocuparán las capas IV, II y I corticales inician su generación entre E14 y E15 (más tardíamente para las capas más superficiales), alcanzan su pico entre E17 y E19, y terminan su proliferación para E21. Los procesos de generación y deposición celular en las distintas capas y minicolumnas corticales siguen el mismo gradiente ventrolateral-dorsomedial antes descrito (Bayer y Altman, op. cit.). En general, el proceso de migración celular termina de 2 a 4 días después de que el pico de generación para las células de cada capa se ha alcanzado (Bayer y Altman, op. cit.). Por esta razón la corteza cerebral termina de ensamblarse después del nacimiento. Los procesos de muerte celular ocurren siguiendo el mismo gradiente ventrolateral-dorsomedial de desarrollo, y son consecutivos a la deposición final celular y a la entrada de las aferentes provenientes de la corteza cerebral contralateral y de otras regiones cerebrales (Bayer y Altman, op. cit.; Jacobson, op. cit.).

Para terminar, cabe mencionar que las aferentes colinérgicas corticales que se originan en el telencéfalo basal alcanzan a la placa cortical durante E14/15, si bien no la penetran hasta el nacimiento. Estas aferentes liberan acetilcolina pasada la segunda semana de vida postnatal. Las aferentes tálamo-corticales penetran la corteza hacia E19, y expresan transitoriamente acetilcolina durante la primera semana de vida postnatal

(Schllagar y O'Leary, 1994). Después de este periodo, las fibras tálamo-corticales adquieren un fenotipo glutamatérgico. Las aferentes dopaminérgicas mesencefálicas alcanzan la placa cortical hacia E15, aunque la penetran, al igual que las colinérgicas telencefálicas, solamente hasta el nacimiento. Las fibras noradrenérgicas originadas en el *locus coeruleus* alcanzan y penetran el primordio cortical hacia E17. El crecimiento longitudinal ulterior de estas fibras sigue los gradientes de neurogénesis antero-posterior y ventrolateral-dorsomedial, de tal manera que las regiones, capas y columnas formadas primero son también las primeras en recibir a la inervación adrenérgica. Por último, algunas fibras serotoninérgicas provenientes de los núcleos del rafe dorsal alcanzan el primordio cortical alrededor del E17. La mayoría de la fibras serotoninérgicas arriban a la corteza hacia E19. Como es el caso para las fibras adrenérgicas, el desarrollo de las fibras serotoninérgicas también sigue los gradientes globales de desarrollo cortical. Así, nuevamente, las áreas, capas y columnas formadas más tempranamente son las primeras en recibir inervación serotoninérgica (Bayer y Altman, op. cit.; Jacobson, op. cit.; Rhoades et al., 1996).

El sistema somatosensorial de la rata.

El sistema somatosensorial de la rata se ha utilizado como modelo experimental para investigar los principios y procesos celulares responsables de promover la formación y plasticidad de circuitos neuronales durante el desarrollo. Este modelo es especialmente útil debido a que cada uno de los relevos sinápticos mantiene una organización

somatotópica, en correspondencia con la distribución de los mecanorreceptores y otros receptores somatosensoriales distribuidos en la superficie del cuerpo (Fig.7 y 8). Así, a lo largo de la vida somatosensorial, los distintos relevos sinápticos contienen un mapa o representación del cuerpo, constituida, en los roedores, por unidades modulares denominadas barreletas, barreloides y barriles, localizados respectivamente en el tallo cerebral, tálamo y S1. (Fig.9, también ver abajo) (Woolsey y Van Der Loos, op. cit.; Woolsey, op. cit.; Riddle et al., 1992; Price, op. cit.; Gutiérrez-Ospina, op. cit.).

Generalidades estructurales del sistema somatosensorial (Fig.9).

El sistema somatosensorial está constituido por receptores y vías sensoriales que son responsables de recibir, transferir, filtrar e integrar información táctil exteroceptiva (i.e., dolor, temperatura, discriminación gruesa y fina, presión, vibración) y propioceptiva derivada de las articulaciones y músculos. Las aferencias sensoriales primarias nacen en los cuerpos neuronales localizados en la cadena ganglionar dorsal paravertebral e inervan a los mecano-, baro-, y termorreceptores localizados en la dermis y papilas dérmicas, así como a los husos musculares y tendinosos. Las aferencias sensoriales que transmiten el dolor generan terminaciones nerviosas libres, es decir, no asociadas a ningún receptor especializado, que se distribuyen en la dermis. La información somática sensorial proveniente de los receptores via las aferencias sensoriales primarias, se dirige hacia la médula espinal o al tallo cerebral sin hacer ningún relevo sináptico en el ganglio. Las mismas neuronas que originan a las aferencias primarias periféricas, transfieren la información hacia las astas dorsales de la médula espinal, o bien hacia los núcleos del trigémino en el tallo cerebral, a través de un proceso especializado, continuación de la

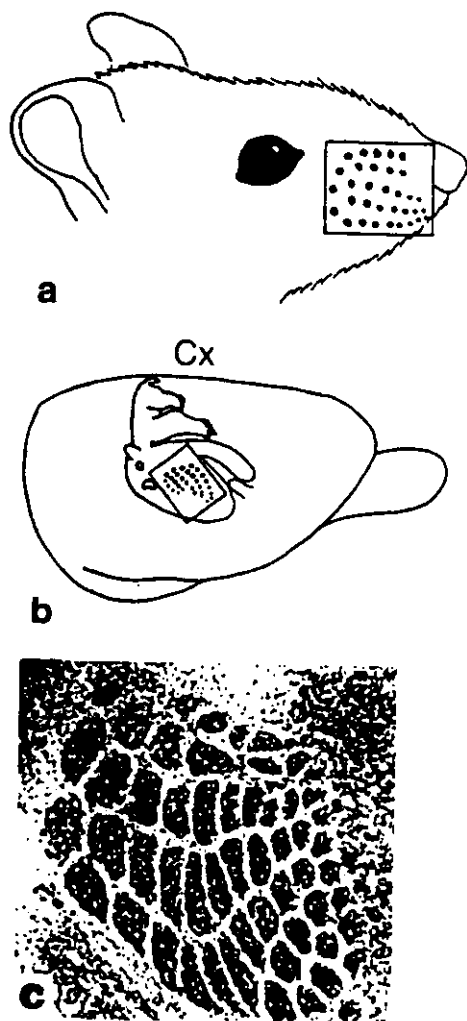
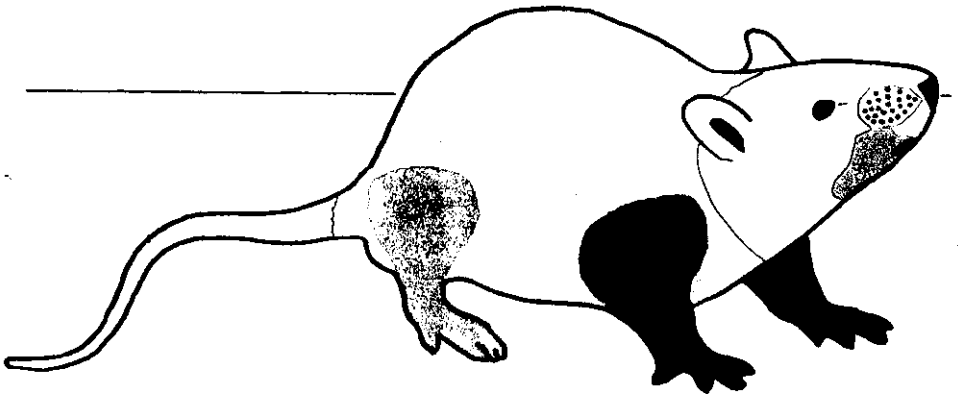


Figura 7. Distribución espacial y representación cortical de la vibrisas faciales en la rata. Los bigotes del hocico de rata (a) están representados en la capa IV de la corteza somatosensorial primaria (b), a manera de un conjunto de módulos o barriles localizados en la subzona de barriles posteromedial (PMBSF) (c). Así, cada barril de esta región representa de manera correspondiente cada uno de los bigotes faciales (Tomado de Gutiérrez-Ospina, 1997).



a



b

Figura 8. a) Dibujo que muestra los distintos segmentos corporales de la rata, cada uno de estos segmentos representados con un color diferente. b) Fotomicrografía del mapa corporal, cada segmento corporal se delinea de acuerdo al código de color mostrado en la figura a.

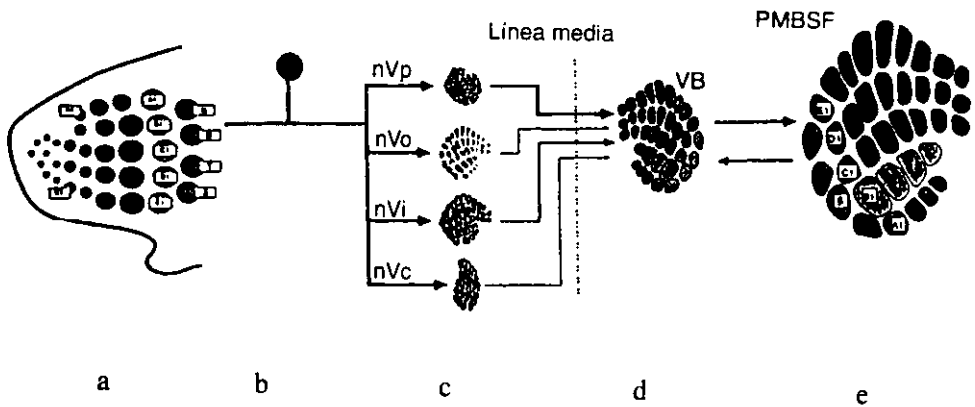


Figura 9. Esquema que representa la vía del nervio trigémino que transmite la información percibida por los bigotes hacia S1 (a). Esta vía nace en las aferentes primarias sensoriales del ganglio del trigémino (b), y esta constituida por tres relevos sinápticos. El primero es el núcleo del nervio trigémino en el tallo cerebral (c: nV). El segundo es el núcleo posteroventromedial del tálamo contralateral (d: VB). Y el tercero esta constituido por la corteza somatosensorial primaria (e; PMBSF). Esta vía se caracteriza por estar organizada en unidades citoarquitectónicas denominada barreletas en el tallo cerebral, barreloides en el tálamo y barriles en S1. Cada una de las unidades en los distintos relevos son la representación de colecciones discretas de mecanorreceptores localizados en los folículos de los bigotes (compare a y e) (Modificado de Woolsey, 1990).

aferencia primaria (Woolsey y Van Der Loos, op. cit.; Jones, 1983; Killackey, op. cit.; Woolsey, op. cit.).

Para el caso de la información somatosensorial extero- y propioceptiva que concierne al tronco y a las extremidades, los procesos de las neuronas ganglionares que inervan estos segmentos corporales establecen contactos sinápticos con diversos núcleos de la médula espinal, dependiendo de la modalidad sensorial (i.e., temperatura, presión, vibración, dolor) que transmiten. Las neuronas espinales, nuevamente dependiendo de la modalidad sensorial, envían ipsilateral o contralateralmente sus axones hacia los funículos anterior y dorsal, tractos nerviosos a través de los cuales ascienden hasta el tallo cerebral. A lo largo del tallo cerebral, existen diversos núcleos que sirven de relevos sinápticos a los tractos somatosensoriales provenientes de la médula espinal. Por ejemplo, para la vía que conduce información táctil generada en los mecanorreceptores, y que viaja ipsilateralmente por los tractos *gracilis* y *cuneatus* en los funículos dorsales, el relevo sináptico en el tallo cerebral son los núcleos homónimos. Una vez transmitida e integrada la información en los núcleos del tallo cerebral, las neuronas correspondientes proyectan contralateralmente al núcleo talámico ventroposterolateral. El tálamo, finalmente, releva la información hacia las cortezas somatosensorial primaria y secundaria (Woolsey y Van Der Loos, op. cit.; Jones, op. cit.; Killackey, op. cit.; Woolsey, op. cit.).

La información somatosensorial proveniente de la cara y parte del cuello es, en mayor grado, recibida y transferida desde la periferia hacia el tallo cerebral a través de las aferentes primarias generadas por las neuronas localizadas en el ganglio del nervio trigémino. Las aferentes primarias hacen relevo sináptico en el complejo nuclear del nervio trigémino, el cual está formado de cinco subnúcleos que se extienden a lo largo del

tallo cerebral. Algunos de estos subnúcleos proyectan hacia el cerebelo, los núcleos ventral y ventroposteriomedial del tálamo, y al núcleo del nervio facial. El núcleo principal del nervio trigémino proyecta al núcleo ventroposteromedial del tálamo desde donde, después de un relevo sináptico, la vía sigue en dirección rostral a las cortezas somatosensorial primaria y secundaria (Fig 10 y 11) (Paxinos, 1995)

Generalidades sobre el desarrollo del sistema somatosensorial.

a) Establecimiento de la Topografía.

El establecimiento de la topografía, es decir de los ejes anatómicos mayores (i.e., dorsomedial, ventrolateral y posteroanterior), y de las relaciones espaciales de los distintos grupos neuronales a lo largo de los relevos sinápticos de la vía somatosensorial en rodeores, ha sido estudiado más extensamente en la división cefálica de la vía. Como se mencionó con anterioridad, esta división se inicia con las aferencias primarias del nervio trigémino que emergen del ganglio homónimo. De aquí, la vía proyecta consecutivamente al complejo del nervio trigémino en el tallo cerebral, al núcleo posteroventromedial del tálamo y a S1 (Dawson y Killackey, 1985)

El establecimiento de las relaciones topográficas a lo largo de la vía trigeminal ocurre con base a tres procesos. El primero de ellos es el responsable de establecer las relaciones espaciales entre el ganglio del trigémino y el núcleo homónimo en el tallo cerebral. Esto ocurre alrededor del E12, y parece estar determinado por un fenómeno de fasciculación intrínseca de las aferentes primarias del nervio trigémino, asociado a la apoptosis de neuronas ganglionares. Así, existirán fascículos destinados a regiones dorsal, ventral, caudal, y oral de la cara. Esta organización primaria es "impuesta" sobre la

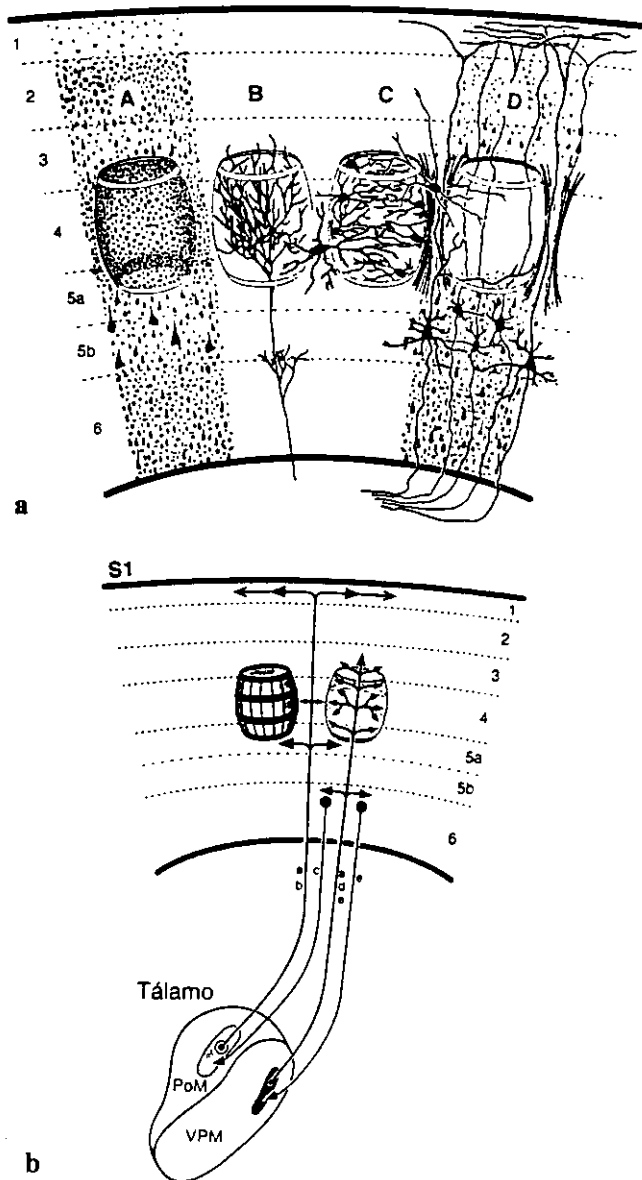


Figura 10. Esquema anatómico que representa los barriles en la capa IV de la corteza somatosensorial primaria (S1) de la rata (a). Los barriles están constituidos principalmente por las aferentes talámicas que provienen de los núcleos posteromedial (PoM) y ventroposteromedial (VPM) (b) (Modificado de Waite y Tracey, 1995).

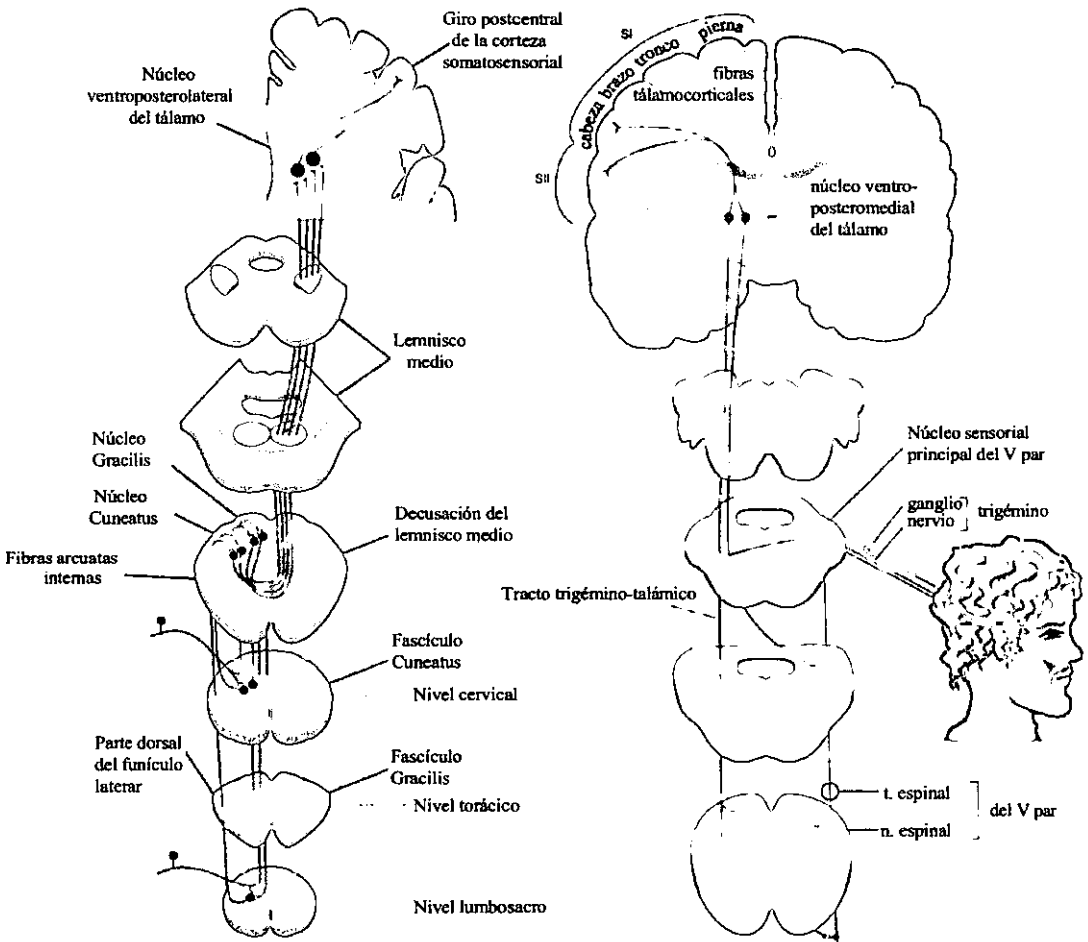


Figura 11. Imagen que muestra la vía ascendente (izquierda) que sigue la información recibida de los receptores localizados en la piel, y la vía descendente (derecha) que manda la corteza somatosensorial hacia la periferia (Modificado de Zigmond *et al.*, 1998).

estructura de los núcleos del nervio trigémino en el tallo cerebral cuando las aferencias primarias arriban a él. Al mismo tiempo que las aferencias primarias han alcanzado a las neuronas del núcleo del nervio trigémino e impuesto cierta organización en este relevo (E15), las neuronas de este último empiezan a formar procesos hacia el núcleo posteroventromedial talámico. Alrededor de la misma edad embrionaria, y por tanto de manera independiente del proceso de crecimiento de las aferencias trigemino-talámicas, las neuronas talámicas también inician su crecimiento de procesos en dirección a S1. Una vez más, tanto las aferencias trigemino-talámicas como las tálamo-corticales crecen ya fasciculadas. En el caso de las primeras, su fasciculación refleja aquella observada en las aferentes primarias. Para las segundas, sin embargo, la fasciculación refleja la organización intrínseca del tálamo en sus planos dorsomedial, ventrolateral y posteroanterior. Esta organización será más tarde impuesta sobre la estructura de la corteza cerebral, y se refleja en ella como un gradiente de desarrollo que sigue estrictamente los planos de diferenciación celular. Una vez conectados todos los relevos, y con base a mecanismos celulares de adhesión, las topografías de las aferencias trigemino-talámicas y tálamo-corticales finalmente coinciden (Killackey et al., 1990; Woolsey, op. cit.; Schlaggar y O'Leary, op. cit.).

b) Establecimiento de la Somatotopía.

La llegada de las aferencias tálamo-corticales a la capa IV de la corteza (en P3) induce la formación de los barriles. La organización de estos corresponde a aquellos de los mecanorreceptores en la periferia. El inicio de la formación de los barriles ocurre alrededor de los días 2/3 postnatales, y el proceso se extiende hasta el P7, siguiendo un

gradiente lateromedial y caudorostral. Así, la somatotopía resulta de la superimposición de la organización y distribución relativa de los receptores periféricos sobre la topografía tálamo-cortical (Dawson y Killackey, op. cit.).

Desnutrición y desarrollo cerebral

El cerebro se desarrolla de acuerdo con un programa genéticamente establecido, susceptible de ser modulado por la influencia de distintos factores ambientales. Estos factores afectan el desarrollo del cerebro durante periodos de crecimiento y diferenciación celular rápidos, los cuales proceden a tiempos distintos para diferentes linajes y tipos celulares (i.e., heterocronia), denominados periodos críticos o vulnerables (Dobbing, 1964; Dobbing y Sands, 1971). Entre los factores extrínsecos ambientales, la nutrición juega un papel primordial debido a que los estados carenciales concurrentes con los periodos de desarrollo gestacional, perinatal y postnatal afectan con severidad el desarrollo del sistema nervioso (Gressens et al., 1997).

En la actualidad se han diseñado modelos animales experimentales, especialmente en roedores, para estudiar directamente los efectos de los procesos carenciales de nutrimentos sobre el desarrollo del cerebro. Estos modelos nos permiten inferir algunos de los defectos que pudieran estar presentes en los cerebros de seres humanos, que sufren o sufrieron de algún tipo de desnutrición en algún momento de su desarrollo. Además nos permiten ensayar posibles correcciones nutricionales dirigidas a la rehabilitación y/o restauración de los trastornos neurológicos que surgen como resultado de la desnutrición o malnutrición (Morgane et al., 1993, Cintra, et al 1997a; Cintra, et al.,

1997b; Diaz-Cintra et al., 1994).

La desnutrición afecta el desarrollo del sistema nervioso central de maneras diversas dependiendo del tiempo y duración de la misma. Así las estructuras de maduración temprana resultan menos afectadas que aquellas cuya maduración es tardía, (Altman et al., 1970; Kemper et al., 1978). Sin embargo, se han observado disminuciones en el volumen y grosor de distintas regiones cerebrales, en buena medida debidas a la disminución en el número, a la atrofia de las neuronas y células gliales, así como a un defecto de la mielinización (McConell y Berry, 1981; Leuba y Rabinowics, 1979; Patel, 1983). Esta disminución del número de células nerviosas se ha relacionado con la muerte neuronal provocada por la insuficiencia de proteína, o bien con alteraciones en el proceso de neurogénesis que resulta de una prolongación en la duración del ciclo celular (Lewis et al., 1975; Bedi, 1991). En relación a la estructura neuronal, la malnutrición produce disminuciones en el tamaño del soma, en la longitud de las dendritas, y en el número y tamaño de las ramas y espinas dendríticas en una gran variedad de estructuras nerviosas. Así mismo, existe un retraso en la maduración de las arborizaciones dendríticas y axónicas en distintas regiones cerebrales (McConell y Berry, 1981; Salas et al., 1974; Cordero et al., 1986; Diaz-Cintra et al., 1990; Diaz-Cintra et al., 1981a y b, 1984, Cintra y Diaz-Cintra, 1985; Cintra et al., 1994a, Salas y Cintra, 1973, Salas et al., op cit.; Escobar y Salas, 1993; Diaz-Cintra et al., 1994; Fish y Winick, 1969, Katz y Grenander, 1982., Katz y Davis, 1983; Cintra et al., 1990, Diaz-Cintra et al., 1991, García Ruiz et al., 1993) Muchos de estos efectos son permanentes, sin embargo, si se establece un programa de rehabilitación nutricional en periodos de desarrollo adecuados, existe la posibilidad de revertir parcial o totalmente algunos parámetros anatómicos (Amhed et al.,

1987).

Diversos estudios han mostrado que la malnutrición afecta las propiedades electrofisiológicas e integrativas de las neuronas. Así, por ejemplo, en rebanadas obtenidas de animales desnutridos se han documentado alteraciones en la adquisición y mantenimiento del LTP (potenciación a largo plazo) hipocampal (Austin-LaFrance et al., 1991), lo cual traduce una reducción en la eficacia sináptica. Por otro lado, registros de la actividad eléctrica cortical y hipocámpica han mostrado alteraciones en los patrones de ritmicidad circádica y sueño (Forbes et al., 1977). Así mismo, se han documentado cambios en la generación, amplitud y frecuencia de la onda theta (Salas et al. 1983; Cintra et al., 1988 ; Durán, 1993, 1995; Austin et al., 1986; 1992; Bronzino et al. 1986; Morgane et al., 1985; 1993). Se ha reportado un aumento en la excitabilidad de las células granulares consecutiva a posibles alteraciones en la maduración de las interneuronas GABAérgicas hipocámpicas (Bronzino et al., 1986; 1991 a y b; Austin et al., 1992). Adicionalmente, se sabe que los cerebros de animales malnutridos presentan un aumento en la concentración de las aminas biogénicas, como la serotonina y la noradrenalina (Sobotka et al., 1974; Stern et al., 1974)

Finalmente la malnutrición provoca retrasos en la aparición de los patrones de respuesta refleja, así como un retraso en el desarrollo de las vías sensoriales (Smart y Dobbing, 1971; Salas y Cintra, 1973) Las crías malnutridas presentan alteraciones conductuales caracterizadas por hiperactividad, mayor ansiedad e irritabilidad, más temor ante eventos novedosos y mayores respuestas de inmovilización, una menor capacidad de exploración quizás relacionados a daños en los mecanismos de atención selectiva hacia estímulos ambientales (Franková, 1973, Salas y Cintra, 1979, Escobar y Salas, 1987) Así

mismo, los animales malnutridos requieren de mayor tiempo de entrenamiento para el aprendizaje de diversas tareas (Goodlett et al., 1986), y se ha observado un incremento de la respuesta conductual ante la presencia del reforzador (Tonkiss y Galler, 1990; Tonkiss et al., 1990).

HIPÓTESIS

La malnutrición hipoproteínica retardará la especificación de la corteza somatosensorial primaria de la rata, afectando el establecimiento de la topografía y somatotopía por igual.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar a la malnutrición hipoproteínica como un método para alterar el tiempo en el que se especifican algunos de los eventos corticales.

Objetivos particulares:

1. Comparar el tiempo de aparición de los barriles que constituyen a S1 en ratas control y malnutridas con técnicas de violeta de creylo.
2. Evaluar si la malnutrición hipoproteínica afecta de forma equivalente al establecimiento de la Topografía y Somatotopía en S1 de ratas

HIPÓTESIS

La malnutrición hipoproteínica retardará la especificación de la corteza somatosensorial primaria de la rata, afectando el establecimiento de la topografía y somatotopía por igual.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar a la malnutrición hipoproteínica como un método para alterar el tiempo en el que se especifican algunos de los eventos corticales.

Objetivos particulares:

1. Comparar el tiempo de aparición de los barriles que constituyen a S1 en ratas control y malnutridas con técnicas de violeta de cresilo.
2. Evaluar si la malnutrición hipoproteínica afecta de forma equivalente al establecimiento de la Topografía y Somatotopía en S1 de ratas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizaron 30 ratas hembras vírgenes adultas (90 días de edad) de la cepa Sprague-Dawley (200-250gr. de peso corporal). El total de las ratas hembras fue dividido aleatoriamente en dos lotes denominados como de hembras control y malnutridas, cada uno con un número equivalente de animales. En este estudio se alimentaron a los animales con dos dietas isocalóricas, cuyo contenido de caseína fue de 25% (hembras control) y 6% (hembras malnutridas). Dichas dietas fueron adicionadas con l-metionina (Tabla I). Las hembras control y malnutridas consumieron las dietas correspondientes durante un período de cuatro semanas previas al apareamiento con machos control. Se consideró la ocurrencia de preñez con base a la presencia del tapón vaginal y de los espermatozoides en un frotis vaginal. Las hembras embarazadas se separaron en cajas de crianza. Al momento del parto, las camadas nacidas en el mismo día y de la misma condición experimental se mezclaron entre sí con la finalidad de tener camadas genéticamente heterogéneas.

Grupos experimentales³

Animales malnutridos crónicos (6/6). Las crías de madres malnutridas continuaron con madres malnutridas después de su nacimiento (n=18)

³ El número de crías fue muy variable

Animales rehabilitados (6/25). Las crías de madres malnutridas fueron colocadas desde el primer día de su nacimiento con nodrizas alimentadas con dietas control (n=15)

Animales malnutridos postnatales (25/6) Las crías de madres nutridas con la dieta al 25% de caseína se cambiaron con madres nutridas con dietas conteniendo 6% de caseína (n=30).

Animales control (25/25) Las crías de madres nutridas con dietas control de caseína continuaron con una madre nutrida con dietas conteniendo 25% de caseína (n=40).

Obtención y procesamiento de las muestras

Animales control y experimentales de 5, 7 y 9 días de vida postnatal fueron anestesiados por vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (40 mg/kg de peso corporal) y perfundidos por vía intracardiaca con solución salina al 0.9%, seguida de una solución que contenía paraformaldehído al 2% y glutaraldehído al 0.05% en amortiguador de fosfatos 0.1M, pH 7.4. Terminada la perfusión, los cerebros se extrajeron del cráneo, y sus cortezas fueron disecadas y aplanadas entre dos portaobjetos separados por 1 mm. Después de una postfijación de una hora en el mismo fijador, los hemisferios fueron congelados en metilbutano e incluidos en tissue-tek, o bien deshidratados a través de un gradiente de alcoholes e incluidos en nitrocelulosa

Los hemisferios incluidos en tissue-tek y nitrocelulosa fueron utilizados para obtener cortes tangenciales (50-80 micras) a través de la corteza cerebral, con ayuda de un crióstato (Leica) y de un microtomo (Leica), respectivamente. Los cortes fueron

montados en portaobjetos embebidos en gelatina y teñidos con la técnica de violeta de cresilo.

Obtención y análisis de los datos

El material de cada condición experimental fue observado utilizando un microscopio óptico (Leica). Con el objeto de evaluar posibles alteraciones en el periodo y progresión de la somatotopia, se determinó cualitativamente el día de aparición, el número y la geometría de los barriles, así como la edad en la que la organización completa de la representación fue alcanzada en cada corteza cerebral. Debido a que nuestro interés primario fue el determinar si la condición nutricional afecta el tiempo de formación de los barriles en una población dada, se calculó el porcentaje de animales que mostraron signos anatómicos claros de la presencia de los barriles por cada día y en cada grupo experimental evaluados. Este procedimiento permite contender con variaciones asociadas al desarrollo individual (e.g., diferencias de la velocidad de desarrollo entre distintos embriones), dando la posibilidad de analizar las tendencias poblacionales e interpretar con mayor claridad los resultados. Los datos obtenidos se analizaron empleando diferentes distribuciones de frecuencias, como la inversa logarítmica, la normal y la Weibull (que corresponde con variables de tiempo o aparición). Se encontró que el mayor factor de correlación fue obtenido con la distribución Weibull. Esta distribución se utilizó para realizar el análisis estadístico de los datos. Mediante su ecuación se calculó el parámetro de posición (α) o arranque, y el parámetro de forma o crecimiento (β).

La distribución de Weibull

La distribución de Weibull es una de las distribuciones de probabilidad más utilizadas en procesos afectados por el tiempo. Originalmente se empleaba para determinar la durabilidad de materiales sometidos a un cierto esfuerzo, y posteriormente se le aplicó en el cálculo de la vida útil de muchos componentes mecánicos y electrónicos. En general se puede decir que se utiliza para predecir el patrón de aparición y progresión de un evento en el tiempo. La Weibull cubre muchas formas de distribuciones. Esto la hace popular en la práctica porque reduce el problema de examinar un juego de datos y decidir cual de las distribuciones comunes (e.g. normal o exponencial) se ajusta mejor.

La Weibull es una familia de distribuciones que depende de, al menos, dos parámetros: el de forma β y el de posición α . Tiene la siguiente función general:

$$Y = \beta (X - \alpha)^{(\beta-1)} e^{-(X - \alpha)^\beta}$$

La curva de la función (Fig 12) varía significativamente dependiendo de los valores de los parámetros. El más importante es el parámetro β , el cual refleja la forma de la curva. El parámetro β corresponde a la pendiente Weibull de la curva linearizada. Nótese que cuando β es 1.0, la función Weibull se reduce a una distribución exponencial y que cuando β se acerca a 3.5 (y, $\alpha = 1$), la Weibull se aproxima a una distribución normal. El significado práctico de la pendiente de Weibull es que define la forma de la distribución del evento. Conocer la forma ayuda a describir el evento analizado en el tiempo. El parámetro de posición α está relacionado con la curtosis de la curva, i.e.,

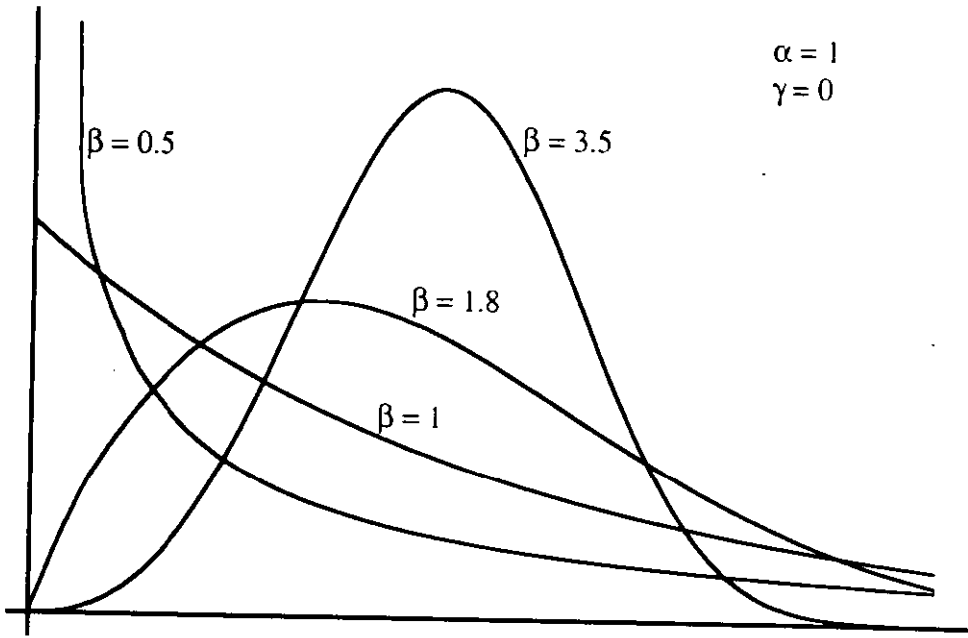


Figura 12. La distribución de Weibull.

cuando α cambia, la curva se vuelve más plana o más aguda. El papel Weibull permite representar la distribución acumulada como una línea recta, de esta manera se simplifica la determinación de los parámetros (FORD Motor Company, 1972, Jurán et al., 1974, Allen et al., 1986; Canavos, 1988, Duffy et al., 1999)

La tasa de aparición de barriles se cuantificó como la diferencia de aparición de barriles de un día al otro ($n_2 - n_1$) medida en porcentaje.

Tabla 1. Composición de nutrimentos de las dietas

Componente	Dieta de 25% de Caseína Contenido en gramos*	Dieta 6% de Caseína contenido en gramos*
Proteína	21.8	5.3
Grasas	15.4	15.0
Carbohidratos	50.9	68.9
Sales	4.7	4.0
Vitaminas	1.0	1.0
Agua	2.2	1.2
Componente no nutritivo	4.2	4.2
Kilocalorías / gramo	4.3	4.3

- Adicionada con l-metionina

GRUPOS

DIAS	25	25/6*	6/25*	6/6*
5	70	44	0	0
7	82	69	50	71
9	90	84	80	86

Tabla 2. Porcentaje de animales con presencia de barriles

*Diferencias significativas con respecto del control determinadas mediante el uso de X^2 , en donde P es menor de 0.01.

RESULTADOS

Establecimiento de la topografía y somatotopía en animales control (25/25)

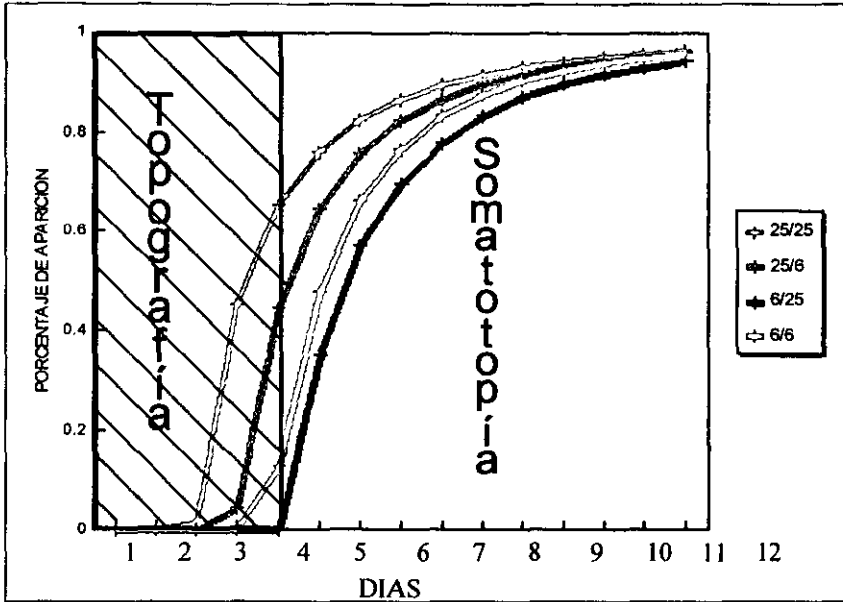
Woolsey et. al. (1990), Killackey et. al. (1990), Schlaggar y O'Leary (1994) han demostrado que la topografía queda establecida entre los días 16/17 prenatales y 3/4 postnatal. Por otro lado, la somatotopía se manifiesta a partir del día 4/5 postnatal. Nuestro grupo control confirma el esquema de desarrollo arriba descrito (Gráfica 1 y Fig.13). Así, el porcentaje de animales control que mostraron la presencia de barriles en S1 al quinto día fue de 70%. Este porcentaje se elevó a un 82% en el séptimo día y a un 90% en el noveno día.

Establecimiento de la topografía y somatotopía en animales malnutridos postnatalmente (25/6)

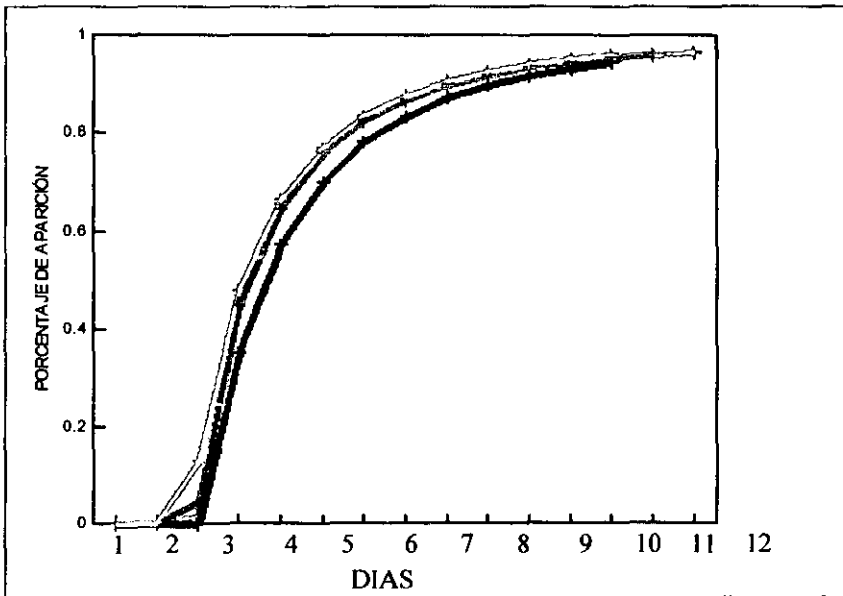
El grupo 25/6 mostró un retardo en la aparición de los barriles en S1 (Gráfica 1 y Fig.13), que es evidenciado al comparar el porcentaje de estos animales y los control que muestran barriles a los 5 días postnatales. Para el grupo control este porcentaje fue de 70%, mientras que para el grupo de animales malnutridos postnatalmente fue de 44%. Para el noveno día de vida postnatal el porcentaje de animales que muestran barriles es similar en ambos grupos.

Establecimiento de la topografía y somatotopía en el grupo malnutrido prenatal (6/25)

Gráfica A



Gráfica B



Gráfica 1.- Efecto de la malnutrición sobre el tiempo de aparición de los barriles en S1 de la rata. Nótese que el inicio de la aparición de los barriles está alterado en los malnutridos, lo que indica una modificación en el establecimiento de la Topografía. (A) Comparación entre los grupos experimentales. (B) Las curvas fueron empalmadas para su comparación, se observa una gran similitud en el comportamiento de las mismas, lo cual sugiere que no se altera la somatotopía.

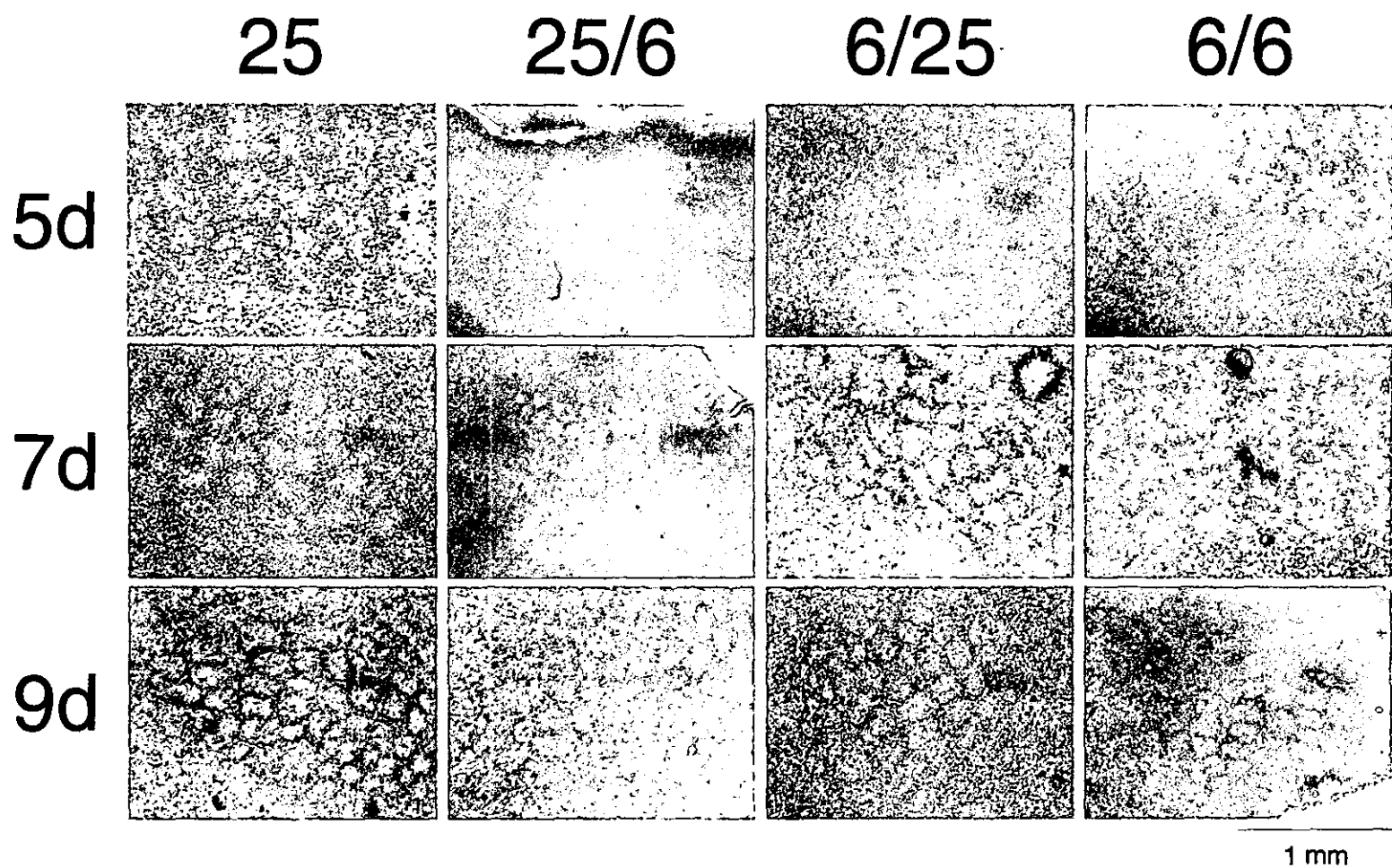


Figura 13. Microfotografías que muestran la aparición de los barriles en S1 en los grupos control (25/25) y malnutridos en el periodo postnatal (25/6), en el periodo prenatal (6/25) y en ambos periodos (6/6). Nótese el retraso en la aparición de los barriles en los tres grupos malnutridos. En el grupo 25/6 comienzan a definirse en el quinto día postnatal, mientras que en los grupos 6/25 y 6/6 se definen hasta el séptimo día.

Al ser comparados con el grupo control, los animales sujetos exclusivamente a malnutrición prenatal mostraron un retardo de alrededor de 2-3 días en la aparición de los barriles (Gráfica 1y Fig.13). Este retardo se manifiesta al comparar el porcentaje de animales malnutridos prenatalmente y control que muestran barriles a los días 5 (0% v.s. 70%, respectivamente) y 7 días (50% vs. 82%, respectivamente) de vida postnatal. En contraste a lo observado en los animales malnutridos postnatales, el retraso documentado en los animales malnutridos prenatalmente se mantiene, hasta cierto grado, hacia el día nueve.

Establecimiento de la topografía y somatotopía en animales malnutridos crónicos (6/6)

Al igual que lo observado para el grupo de animales malnutridos prenatalmente, el grupo de animales malnutridos crónicamente muestra un retraso de alrededor de 3 días en el tiempo de aparición de los barriles en S1. Esto es evidente al comparar el porcentaje de animales control y malnutridos crónicamente a los 5,7 y 9 días de vida postnatal (Gráfica 1 y Fig.13).

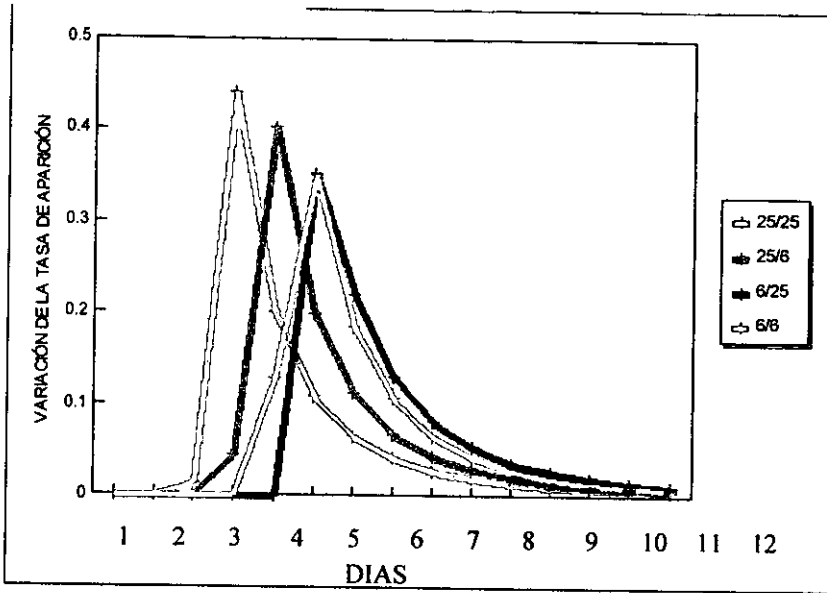
Como se puede observar en la gráfica 1A, los grupos de animales malnutridos presentan un desplazamiento o retraso en el inicio de la aparición de los barriles. Esto demuestra una alteración en el periodo del establecimiento de la topografía. Además se aprecia también que el patrón de formación de los barriles (tasa de aparición) es muy similar en todos los grupos (Fig. 1B), lo que indica que la somatotopía no está perturbada. Finalmente podemos decir que la malnutrición hipoproteínica afecta primordialmente a la topografía, no así a la somatotopía.

En la gráfica 2A se puede observar el disparo (considerado como el inicio de la formación de los barriles) en cada grupo, que nos indica el fin del establecimiento de la topografía y el inicio de la somatotopía. La gráfica 3 muestra para cada grupo el patrón de formación de los barriles transformado en línea recta. La linearización de cada curva de la figura 1A se logró gráficamente sus datos sobre papel Weibull. En dicha gráfica se presentan los valores de las pendientes correspondientes a cada grupo, demostrando de nuevo con ellas que la somatotopía no se afectó.

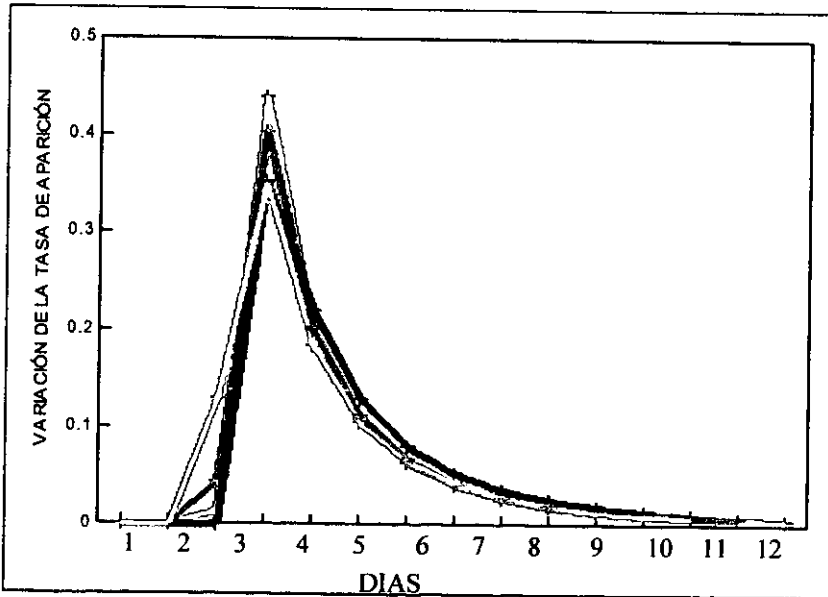
DISCUSIÓN

Los distintos eventos que constituyen los programas de desarrollo cerebral se llevan a cabo en marcos espacio-temporales precisos que imponen al sistema distintas restricciones. Si bien mucho se sabe acerca de los mecanismos que determinan las restricciones espaciales del desarrollo cerebral, nuestro conocimiento sobre los mecanismos que regulan el tiempo y duración de los distintos eventos de su desarrollo, es aún muy escaso. Estudios previos han sugerido que la nutrición inadecuada pre-, peri- y postnatal retarda el desarrollo del SNC. Así, el presente trabajo evaluó los efectos de tres paradigmas de malnutrición sobre el tiempo de especificación de la vía somestésica tálamo-cortical, en un intento por buscar un modelo que permita estudiar, en un futuro mediato, los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a la modulación del

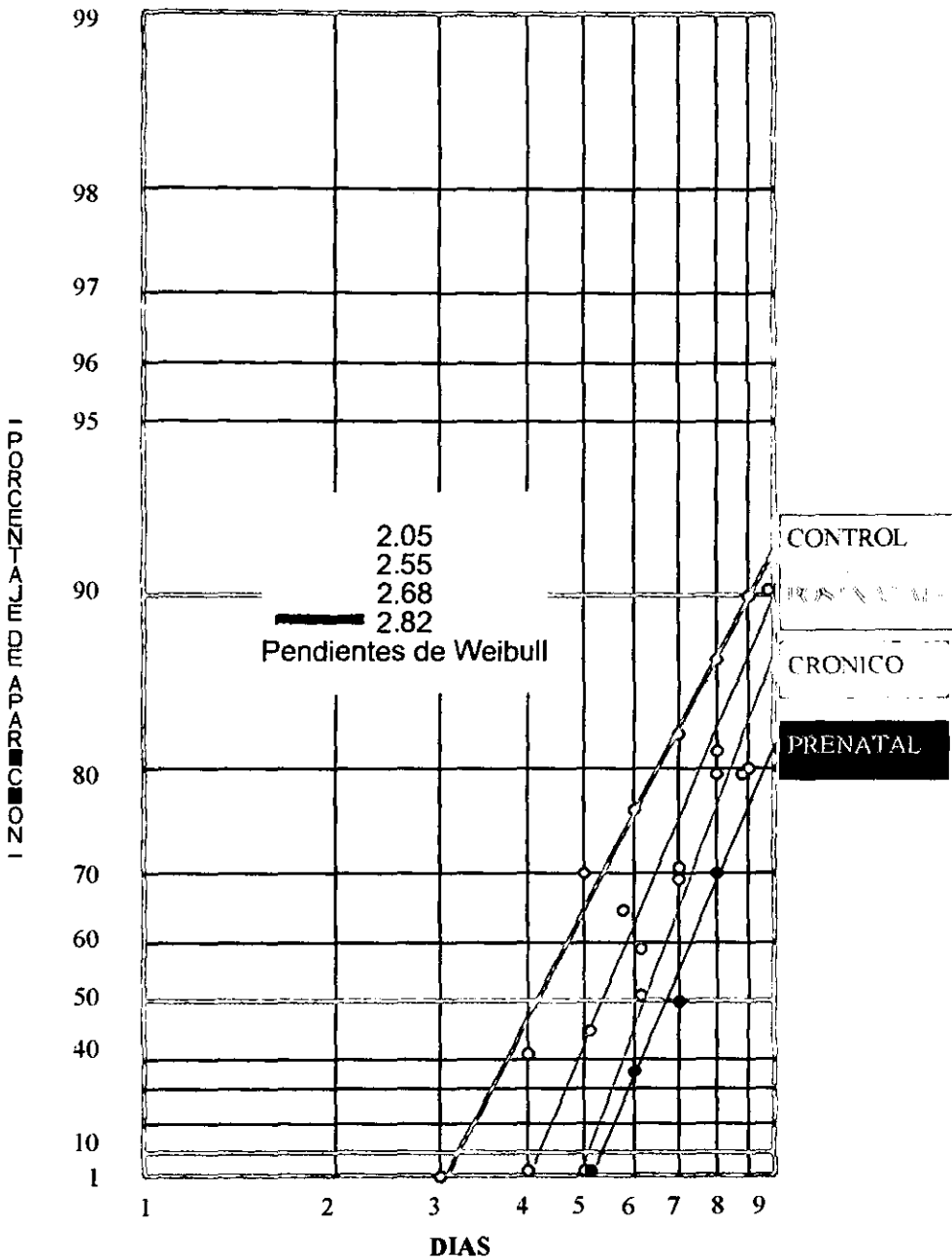
Gráfica A



Gráfica B



Gráfica 2.- Inicio de la aparición de los barriles en S1 de la rata (Disparo). (A) Comparación entre los grupos experimentales. (B) Empalme de las curvas.



Representación gráfica linealizada de los datos obtenidos para cada grupo en Papel Weibull. Se muestran los valores de las pendientes de Weibull obtenidas por el método de mínimos cuadrados

tiempo de desarrollo.

En la vía somestésica tálamo-cortical, como en la mayoría de las vías del SNC, ocurren dos eventos que determinan la distribución espacial de la aferentes talámicas en S1. El primero de ellos es el establecimiento de la topografía (i.e., las relaciones espaciales entre el tálamo y la corteza), y el segundo es el establecimiento de la somatotopía (i.e., la superimposición de la organización y distribución relativa de los receptores periféricos sobre la topografía tálamo-cortical). Estos eventos ocurren de acuerdo a un calendario de desarrollo preciso (Fig. 14); la topografía se establece entre los días 16/17 y 2/3 de vida prenatal y postnatal, respectivamente, mientras que la somatotopía lo hace entre los días 4/5 y 8/9 de vida postnatal (Schlaggar y O'Leary, op. cit.; Dawson y Killackey, op. cit.). Por otro lado, esta vía se segrega en unidades conocidas como barriles, fácilmente reconocidos con técnicas histológicas clásicas, que aparecen gradualmente conforme el establecimiento de la somatotopía progresa. Así, la aparición de los barriles es un indicativo anatómico de que finalizó el establecimiento de la topografía y se inicia el establecimiento de la somatotopía. La calendarización precisa del establecimiento de topografías y somatotopías, aunado a la clara definición anatómica de cuando empieza y termina cada uno de estos procesos, hacen de la vía tálamo-cortical de S1 un modelo ideal para evaluar tanto los efectos de distintas manipulaciones experimentales sobre los tiempos de desarrollo, como los mecanismos celulares y moleculares que los modulan. Con esto en mente, nuestros resultados claramente muestran que la malnutrición afecta los tiempos de especificación de la vía somestésica tálamo-cortical (ver abajo), abriendo la posibilidad del uso de ambos como un modelo para evaluar los mecanismos que determinan la duración de distintos eventos del

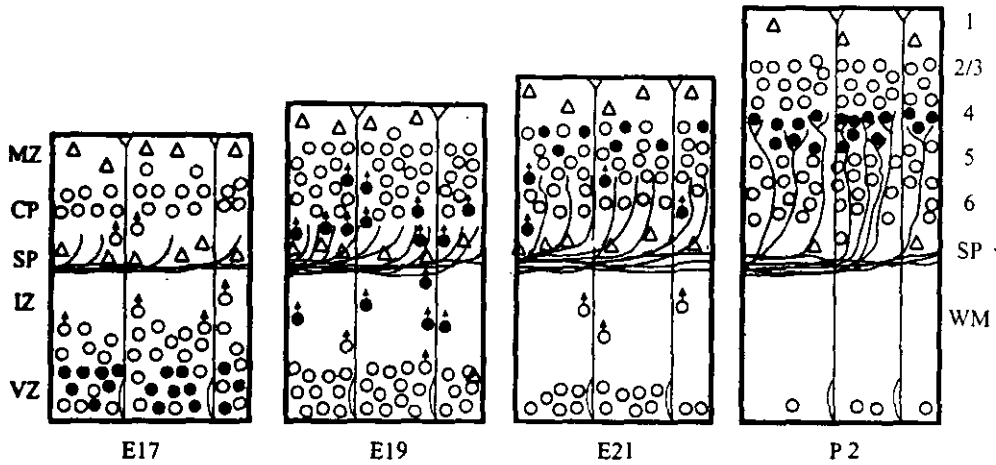


Figura 14. Diagrama que resume la secuencia de eventos durante el desarrollo de la proyección tálamo-cortical en la rata. Las primeras aferentes talámicas arriban a la corteza (zona de la subplaca SP) al día embrionario 17 (E17), tiempo en el que sus células blanco están siendo generadas en la zona ventricular (ZV). Para el E19 las células de la capa IV migran de ZV al primordio cortical. Las aferentes reinician su crecimiento e invaden a la placa cortical (PC). En E21 las fibras talámicas crecen dentro de la PC madurante, y al día postnatal 2 (P2), después de que la capa IV ha sido establecida, la mayoría de las aferentes han alcanzado su posición final en la corteza. ZM, zona marginal. Los números indican las capas corticales diferenciadas.

desarrollo neural.

La carencia nutricional durante el desarrollo induce una serie de cambios estructurales y funcionales en el cerebro adulto. Estos cambios, se traducen en deficiencias significativas en los procesos perceptuales, cognitivos y conductuales. Estudios realizados en nuestro y en otros laboratorios han documentado con claridad que los defectos estructurales y funcionales observados en el cerebro adulto de animales malnutridos se adquieren a lo largo del desarrollo, especialmente durante periodos (i.e., periodos críticos) en los que procesos de generación, migración, crecimiento y maduración neuronal se están llevando a cabo (Dobbing, 1964; Dobbing y Sands, 1971; Morgane et al., 1993). Así por ejemplo, la malnutrición conduce a una disminución en la tasa de desarrollo y en el número de neuronas generadas, hipotrofia neuronal generalizada, y disminución en el número de sinápsis por alteraciones en los mecanismos de sinaptogénesis (Aguilar, comunicación personal) en diferentes regiones del SNC. También se han observado alteraciones de los niveles de neurotransmisores, neuromoduladores, y sustancias neurotróficas como resultado de condiciones nutricionales inadecuadas. No obstante estos hallazgos, aún se desconoce si la malnutrición retarda de manera homogénea o heterogénea la ocurrencia y progresión de los eventos del desarrollo. Es decir, que el retraso de un primer evento ocasione un retraso equivalente en los subsiguientes, o bien que el retraso afecte a los distintos eventos del desarrollo de manera independiente.

En el presente trabajo, evaluamos si la malnutrición afecta de forma equivalente el establecimiento de la topografía y la somatotopía de la corteza cerebral en la S1 de la rata. Estudios previos en ratas normales han mostrado que la topografía de la vía

somestésica tálamo-cortical se establece entre los días 16/17 de gestación y los días 2/3 de vida postnatal. Por otro lado, se sabe que la somatotopía se establece entre los días 3/4 y 8/9 de vida postnatal. En nuestras series experimentales, el inicio de la somatotopía se consideró como el día en que se observaron, por vez primera, los rasgos anatómicos característicos de los barriles en S1. Así, evidencia inequívoca del inicio de la formación de los barriles (disparo) se documentó a los 5, 7 y 7 días de vida postnatal para los grupos de animales malnutridos postnatales, malnutridos prenatales y malnutridos crónicos, respectivamente (Gráfica 2A). Estos datos sugieren que hay un retraso severo en la topografía evidenciado por retardo en el inicio de la formación de los barriles (somatotopía) como consecuencia de la malnutrición prenatal y crónica, y un retraso menor en aquellos animales sometidos a malnutrición postnatal. Ésta última observación parece contradictoria, hasta cierto grado, con datos previos que muestran que la rehabilitación nutricional postnatal revierte parcialmente, en distintas regiones del SNC, los efectos de la malnutrición prenatal, cuando los animales son estudiados a los 15, 30, 60, 90, 120 y 220 días de edad. Las diferencias entre nuestro estudio y aquellos previos pudieran deberse a las distintas edades en las que los animales fueron estudiados, así como a la duración del periodo de rehabilitación nutricional. Si el periodo es corto, es probable que los ajustes metabólicos necesarios para aprovechar el nuevo status nutricional, no se lleven a cabo o se realicen parcialmente. Es bien conocido que los ajustes metabólicos asociados a cambios fisiológicos crónicos toman hasta 7 días en el cerebro adulto (Riddle et al., 1993, Yip et al., 1986)

Por otro lado, las observaciones de que el establecimiento de la somatotopía esta retrasada, pero que la tasa de formación de barriles no esta alterada (Gráfica 1B, valores

de la pendiente de Weibull) indican que el establecimiento de la topografía, y no el de la somatotopía, es el proceso que se altera en mayor grado en los animales sometidos a distintos regímenes de malnutrición. Así, la malnutrición no parece afectar a los dos eventos que especifican vías corticales durante el desarrollo de manera homogénea. La razón de esta afectación independiente, y aparentemente selectiva, es desconocida. Sin embargo, pensamos que los requerimientos metabólicos asociados al crecimiento de las aferentes durante el establecimiento de la topografía deben ser mayores a aquellos necesarios para refinar la circuitería neuronal durante el establecimiento de la somatotopía. Es por esto, que el establecimiento de la topografía sería afectada en mayor grado. Nuestros datos sugieren además que el establecimiento de la topografía y de la somatotopía son procesos independientes, posiblemente regulados por mecanismos diferentes, si bien forman parte de un proceso continuo de especificación de las vías nerviosas (ver también Dawson y Killackey, op. cit.; Calikoglu et al., 1996).

Si bien la somatotopía parece no estar afectada por la malnutrición hipoproteínica (Gráfica 1B), estudios previos han mostrado que el crecimiento neuronal, una vez establecida la somatotopía, si es profundamente alterado por esta manipulación experimental. Vondokmai en 1980, ha mostrado que animales sometidos a dietas hipoproteínicas con 8% de caseína muestran una disminución del tamaño de los barriles y del tamaño neuronal. Esta deficiencia en el crecimiento podría también deberse a un retraso en la progresión del programa de desarrollo (Vondokmai, 1980). Estos resultados, junto con los nuestros, apoyan nuevamente que la malnutrición no afecta de manera homogénea a los distintos eventos de desarrollo. En específico, la definición de los espacios blanco a inervar y la ejecución de los programas de crecimiento neuronal,

una vez especificadas, las vías, se ven más afectados que los procesos de refinamiento de la circuitería neuronal. En apoyo a esta conclusión, en el laboratorio se ha mostrado que la producción de sinápsis en los animales malnutridos no esta afectada durante los primeros 15 días de vida postnatal (Aguilar comunicación personal) En el desarrollo temprano, el número de sinápsis en los animales malnutridos es mayor que en los animales control, al menos con base a cuantificaciones morfométricas realizadas en rebanadas de tejido inmunotefuidas para sinaptofisina (Aguilar et al. 1999).

Finalmente, el o los mecanismos que causan el retardo de los distintos eventos del desarrollo que son afectados por la malnutrición hipoproteínica no son conocidos. Es probable, sin embargo, que la falta de factores neurotróficos junto con alteraciones hormonales asociadas a la malnutrición pudieran en conjunto conducir a dicho retardo. Se sabe que las hormonas tiroideas, los corticosteroides, algunas hormonas peptídicas y factores neurotróficos regulan el tiempo de ocurrencia de distintos eventos del desarrollo en el sistema nervioso. Es de especial interés el probable papel que juega la serotonina en los procesos de modulación del tiempo pues se ha propuesto que esta amina biogénica es un elemento en el reloj que modula la progresión del desarrollo del SNC (Gutiérrez-Ospina, comunicación personal). Por otra parte estudios recientes han mostrado que los niveles de serotonina en los animales malnutridos se encuentran elevados durante los procesos de especificación de las vías y áreas corticales (Gutiérrez-Ospina, comunicación personal) . Asi, es probable que los niveles altos de serotonina retarden la progresión de los eventos de desarrollo, y que sea indirectamente a través de la modulación del tiempo, como la serotonina ejerce sus efectos tróficos sobre el sistema nervioso en etapas muy tempranas de su desarrollo. Esta hipótesis requiere, sin embargo, de evaluación

experimental, la cual estamos ya trabajando.

CONCLUSIONES

1. La malnutrición provoca un retraso de 1-2 días en los animales del grupo (25/6)
2. La malnutrición produce un retraso de alrededor de 3 días en los animales de los grupos prenatales (6/25) y crónicos (6/6).
3. La malnutrición afecta de manera independiente a la somatotopía y a la topografía.
4. El establecimiento de la topografía es el evento que se ve más alterado por la malnutrición.
5. La topografía y la somatotopía son regulados posiblemente por mecanismos diferentes, aunque forman parte de un proceso continuo de especificación de las vías nerviosas.
6. La malnutrición es un modelo adecuado para estudiar los tiempos de especificación de la corteza de la rata.

REFERENCIAS

- Aguilar A., Piña R.M., Granados L., Gutiérrez-ospina G., Diaz-Cintra S. Increased levels of synaptophysin (SYN) in the juvenile rat hippocampal formation (HF) following chronic malnutrition. pp 2020. 29th Annual Meeting Society for Neurosciences (1999).
- Ahmed M.G.E., Defi M.A., Warren M.A. y Kamel M.M. (1987) Effect of a length period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the synapse: granule cell neuron ratio in the rat dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 263. 146-158.
- Allen E.T., Feugas R., Haacke J. Les chemins de la fiabilité. Joint Research Committee. pp 47-48. 1986.
- Altman J., Das G. y Sudarshan K. (1970) The influence of nutrition on neural and behavioral development: I. Critical review of some data on the growth of the body and brain following dietary deprivation during gestation and lactation. *Dev. Psychobiol.* 3: 281-301.
- Anderson S.A., Eisenstat D.D., Shi L., Rubenstein J.L.R. (1997) Interneuron migration from basal forebrain to neocortex: Dependence on Dlx genes. *Science* 278: 474-476.
- Andrew A. (1982) The APUD concept: Where has it led us. *Brit. Med. Bull.* 38: 221.
- Armstrong-James M. (1975) The functional status and columnar organization of single cells responding to cutaneous stimulation in neonatal rat somatosensory cortex SI. *J. Physiol.* 246: 501-538.
- Austin K.B., Beiswanger J.D., Bronzino R.J., Austin-LaFrance R.J., Galler J.R. y Morgane P.J. (1992) Prenatal protein malnutrition alters behavioral state modulation of inhibition and facilitation in the dentate gyrus. *Brain Res. Bull.* 28 245-255.
- Austin-La France R.J., Morgane P.J. y Bronzino J.D. (1991) Prenatal protein malnutrition and hippocampal function: Rapid kindling. *Brain Res. Bull.* 27 815-818.
- Austin K.B., Bronzino J.D. y Morgane P.J. (1986) Prenatal protein malnutrition affects synaptic potentiation in the dentate gyrus of rats in adulthood. *Dev. Brain Res.* 29: 267-273.
- Baker P.C. y Schoeder T.E. (1967) Cytoplasmic filaments and morphogenetic movement in amphibian neural tube. *Dev. Biol.* 15: 432
- Bayer S.A. y Altman J. (1991) Neocortical development. pp 255. Raven Press New York.
- Beatty J. (1995) The nervous system. En: Principles of behavioral neuroscience. pp 114-145. Madison: Brown & Benchmark Press.
- Bedi K.S. y Bhide P.G. (1988) Effects of environmental diversity on brain

ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

- morphology. *Early Human Development*. 17: 107-143.
- Bedi K.S. (1991) Spatial learning ability of rats undernourished during early postnatal life. *Physiology and Behavior*. 51: 1001-1007
 - Bloom F.E., Aghajanian G.K. (1968) Fine structural and cytochemical analysis of the staining of synaptic junctions with phosphotungstic acid. *J Ultrastructure Research* 22: 361-375.
 - Bourgeois J.P. (1997) Synaptogenesis, heterochrony and epigenesis in the mammalian neocortex. *Acta Paediatr. Suppl.* 422: 27-33.
 - Bronzino J.D., Austin LaFrance R.J., Siok C.J., Morgane P.J. (1986) Effect of protein malnutrition on hippocampal kindling electrographic and behavioral measures. *Brain Res.* 384: 348-354.
 - Bronzino J., Austin D., La-France R.J., Morgane P.J. y Galler J.R. (1991a) Effects of prenatal protein malnutrition on kindling-induced alterations in dentate granule cells excitability. I. Synaptic transmission measures. *Exp. Neurol.* 112: 206-215.
 - Bronzino J., Austin D., La-France R.J., Morgane P.J., Galler J.R. (1991b) Effects of prenatal protein malnutrition on kindling-induced alterations in dentate granule cells excitability. II. Paired-pulses measures. *Exp. Neurol.* 112: 216-223.
 - Butler B.A. y Hodoss W. (1996) *Comparative Vertebrate Neuroanatomy*. pp 168-176. Wiley-Liss. New York.
 - Carpenter, M.B. (1994) *Neuroanatomía*. pp 370-380. Williams & Wilkins.
 - Calikoglu A.S., Gutiérrez-Ospina G., D'Ercole A.J. (1996) Congenital hypothyroidism delays the formation and retards the growth of the mouse primary somatic sensory cortex (SI). *Neuroscience letter*. 213: 132-136.
 - Canavos C.G. *Probabilidad y Estadística. Aplicaciones y métodos*. McGraw Hill. México. pp 159-162. 1988.
 - Cintra L. y Díaz-Cintra S. (1985) Efecto de la desnutrición proteínica en los núcleos rafe dorsal, *locus coeruleus* y en las células no piramidales de la corteza visual de la rata. *Rev. Chil. Nutr.* 13(2): 76-82.
 - Cintra L., Díaz-Cintra S., Galván A. y Morgane P.J. (1988) Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Bol. Estud. Med. Biol. Mex.* 36: 3-17
 - Cintra L., Díaz-Cintra S., Galván A., Kemper T. y Morgane P.J. (1990) Effects of protein undernutrition on the dentate gyrus in rats of three age groups. *Brain Research*. 532: 271-277.
 - Cintra L., Galván A., Díaz-Cintra S. y Escobar C. (1994) Protein malnutrition on suprachiasmatic nucleus cells in rats of three ages. *Biol. Estud. Med. Biol. Mex.* 42: 11-19.
 - Cintra L., Granados L., Aguilar A., Kemper T., DeBassio W., Galler J., Morgane P., Durán P., Díaz-Cintra S. (1997a) Effects of prenatal protein malnutrition on mossy fibers of the hippocampal formation in rats of four groups. *Hippocampus* 7: 184-191.
 - Cintra L., Aguilar A., Granados L., Galván A., Kemper T., DeBassio W., Galler J., Morgane P., Durán P., Díaz-Cintra S. (1997b) Effects of prenatal protein malnutrition on hippocampal CA1 pyramidal cells in rats of four age groups. *Hippocampus* 7: 192-203
 - Cordero M.E., Trejo M., García E., Barrios T., Rojas A.M. y Colombo M. (1986)

- dendritic development in the neocortex of adult rats following a maintained prenatal and/or early postnatal life undernutrition. *Early Hum. Dev.* 114: 245-258
- Cowan W.M., Fawcett J.W., O'Leary D D M y Sandfield B B (1984) Regressive events in neurogenesis. *Science* 225: 1258
 - Cowan W.M. (1973) Neuronal death as regulative mechanisms in the control of cell number in the nervous system. En *Development and aging in the nervous system* pp 19-41. Academic Press: New York
 - Dawson, D.R. y Killakey H P (1985) Distinguishing topography and somatotopy in the thalamocortical projections of the developing rat. *Developmental Brain Research*, 17: 3309-313.
 - Díaz-Cintra S., Cintra L., Kemper T., Resnick O., Morgane P J (1984) The effects of protein deprivation on the nucleus *Locus coeruleus*: a morphometric golgy study in rats of three age groups. *Brain Research* 304: 243-253.
 - Díaz-Cintra S., Cintra L., Resnick O., Kemper T., Morgane P J (1981) Nucleus raphe dorsalis: a morphometric golgy study in rats of three age groups. *Brain Research* 207: 1-16.
 - Díaz-Cintra S. y Ortega N.A. (1993) Histogénesis y morfogénesis en el SNC Tomado de Ontogenia Neural. Soc. Mex De Ciencias Fisiológicas UNAM Coordinación de la Investigación Científica. pp 129-146
 - Díaz-Cintra S., Cintra L., Galván A., Aguilar A., Kemper T. y Morgane P.J. (1991) Effects of prenatal protein deprivation on postnatal development of granule cells in the fascia dentata. *The Journal of Comparative Neurology* 310: 356-364
 - Díaz-Cintra S., Cintra L., Ortega A., Kemper T. y Morgane P J (1990) Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex in rats of three age groups. *J. Comp. Neurol.* 292: 117-126.
 - Díaz-Cintra S., Garcia-Ruiz M., Corkidi G. y Cintra L. (1994) Effects of prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on CA hippocampal pyramidal cells in rats of four ages. *Brain Research* 662: 117-126
 - Dobbing J. (1964) Vulnerable periods in developing brain. En Davison A. N., Dobbing J. (Eds) *Applied neurochemistry* Oxford Blackwell pp 287-316
 - Dobbing J. y Sands J. (1971) Vulnerability of developing brain IX. The effect of nutritional growth on the timing of the brain growth spurt. *Biol. Neonate* 19: 363-378.
 - Duffy S. y Baker E. Weibull parameter estimation. Cleveland State University (1999).
 - Durán P. (1993) Privación del sueño MOR en ratas normales y malnutridas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM
 - Durán P. (1995) Análisis de la actividad eléctrica cortical antes y después de la privación selectiva de SMOR en ratas normales y malnutridas. Tesis de Maestría. Unidad académica y de ciclos profesionales y del posgrado del CCH. Centro de Neurobiología, UNAM
 - Escobar C. y Salas M. (1993) Neonatal undernutrition and amygdaloid nuclear complex development: an experimental study in the rat. *Exp. Neurol.* 122: 311-318
 - Escobar C. y Salas M. (1987) Ameliorating effects of early sensory stimulations on the behavior of adults rats underfed during the lactating period. *Bol. Est. Med. Biol.*

Méx. 35(3-4): 195-202.

- Favorov O. V, Kelly D. G. (1994) Minicolumnar organization within somatosensory cortical segregates: I. Development of afferent connections. *Cerebral Cx- 4*: 408-427
- Fish I. y Winick M. (1969) Effect of malnutrition on regional growth and development of developing rat brain. *Exp. Neurol.* 25: 534-540.
- Forbes W.B., Tracy C.A., Resnick O. y Morgane P.J (1977) Effect of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Exp Neurol* 57 440-450
- FORD. Reliability Methods. Reliability office, North American Automotive operations. pp 11,12.1972.
- Franková S. (1973). Effect of the protein-calorie malnutrition on the development of social behavior in rats. *Dev. Psychobiol* 6: 33-43.
- Fujita T. y Kobayashi S. (1978) Paraneural cells in the GEP endocrine system. En: *Gut hormones* pp 414 (Bloom SR ed). Churchill Livingstone: London.
- Ganon W.F. (1998) Fisiología médica. pp. 981. Ed. Manual Moderno: México D.F.
- García-Ruiz M., Cintra-Díaz S., Cintra L y Corkidi G. (1993) Effect of protein malnutrition on CA hippocampal pyramidal cells in rats of three ages. *Brain Research.* 625: 203-212.
- Gilbert S. (1991) *Developmental Biology*. pp 891. Sinauer: Sunderland
- Goodlett Ch. R., Valentino M.L., Morgane P.J., Resnick O. (1986) Spatial Cue Utilization in chronically malnourished rats: task-specific learning deficits. *Dev. Psychobiology.* 19 (1): 1-15.
- Green C.B. (1998a) How cells tell time. *Trends in Cell Biology* 8: 224-230.
- Green C.B. (1998b) Time marches on. *Trends in Cell Biology* 8: 342-343
- Gressens P., Muaku S.M., Besse L., Nsegbe E., Gallego J., Delpech B., Gaultier C., Evrard P., Ketelslegers J., Maiter D. (1997) Maternal protein restriction early in rat pregnancy alters brain development in progeny. *Developmental Brain Research* 103: 21-35.
- Gruss P. y Walther C. (1992) Pax in development. *Cell* 69: 719-722
- Gutiérrez-Ospina G. (1997) Efectos del factor de crecimiento tipo insulina I (IGF-1) sobre el crecimiento cerebral y el desarrollo del sistema somático sensorial: Estudios anatómicos en la corteza somatosensorial primaria (S1) de ratones transgénicos. Tesis doctoral. UNAM. México, D.F.
- Hall, J.C. (1995) Tripping along the trail to the molecular mechanisms of biological clocks. *TINS* 18, 5: 230-240.
- Hatten M.E. y Heintz N. (1999) Neurogenesis and migration. En: *Fundamental neuroscience*. pp 451-476. (Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts JL y Squirre LR eds) Academic Press: San Diego.
- Haydon P.G., y Zoran M.J. (1994) Retrograde regulation of presynaptic development during synaptogenesis. *Journal of Neurobiology* 25(6). 694-706
- Jacobson M. (1991) *Developmental neurobiology* pp 776. Plenum Press New York
- Jones E.G. (1983) The Thalamus. En: *Chemical Neuroanatomy* pp 505-550. (Emson PC. ed). Raven Press: New York.
- Juran J.M., Gryna F.M., Bingham R.S. *Quality Control Handbook*. McGraw-Hill 3th ed. pp 2215-2218. 1974

- Kandel, E.R., Schwartz J.J. y Jessel T.M.(1991) Principles of neural science. Third edition. Appleton and Lange: Norwalk, Connecticut.
- Katz H.B. y Grenander U. (1982) Developmental matching and the numerical matching hypothesis for neuronal cell death. *J. Theor. Biol.* 98: 501-517.
- Katz H.B. y Davies C.A. (1983) The separate and combined effects of early undernutrition and environmental complexity at different ages cerebral measures in rats. *Dev. Psychobiol.* 16: 47-58.
- Kemper T.L., Pasquier D.A. y Drazen S. (1978) Effect a low protein diet on the anatomical development of subcortical formation. *Brain Res. Bull.*:443-450.
- Killackey H.P. y Belford G.R. (1979) The formation of afferent patterns in the somatosensory cortex of the neonatal rat. *J. Comp. Neur.* 183: 285-304.
- Killackey H.P., Gould H.J., Cusick C.G, Pons T.P., Kaas J.H. (1983) The relation of corpus callosum connections to architectonic fields and body surface maps in sensorimotor cortex of new and old world monkeys. *J. Com. Neurol.* 219: 384-419.
- Killackey H.P., Jacquin M.F., Rhoades R.W. (1990) Development of somatosensory system structures. En : *Development of sensory system in mammals.* pp 403-430. (Coleman, JR ed). John Wiley & Sons: New York.
- Kintner C. y Lumsden A. (1999) Neural induction and pattern formation. En: *Fundamental neuroscience.* pp 417-448. (Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts JL y Squire LR eds). Academic Press: San Diego.
- Land P., de Blas A. y Reddy N. (1995). Immunocytochemical localization of GABA receptors in rat somatosensory cortex and effects of tactile deprivation. *Somatosensory and motor res.* 12 (2): 127-141.
- Leise E.M. (1990) Modular construction of nervous system: a basic principle of design for invertebrates and vertebrates. *Brain Research Reviews* 15: 1-23.
- Leuba G. y Rabinowicz T. (1979) Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. II Evolution of dendritic branching and spines in the viseral region. *Exp. Brain Res.* 37: 299-308.
- Levin B., Craik R. y Hand P. (1988). The role of norepinephrine in adult rat somatosensory (S1) cortical metabolism and plasticity. *Brain Res.* 443: 261-271.
- Levitt P., Barbe M.F., Eagleson K.L. (1997) Patterning and specification of the cerebral cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* 20: 1-24.
- Lewis P., Baláz R., Patel A. y Johnson A. (1975). The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. *Brain Res.*, 83: 235-247.
- Liem K., Tremml G., Roelink H. y Thomas M. (1995). Dorsal differentiation of neural plate cells induced by BMP-Mediated signals from epidermal ectoderm. *Cell.* 82: 969-979.
- Lois C. y Alvarez-Buylla A. (1994) Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science* 264: 1145-1148.
- Luskin M.B. (1993) Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron* 11: 173-189.
- Malach R. (1994) Cortical columns as devices for maximizing neuronal diversity. *TINS* 17 (3): 101-104.
- McConnell S. K. y Berry M. (1981) The effect of refeeding after varying periods of

neonatal undernutrition on the morphology of Purkige cells in the cerebellum of the rat. *J. Comp. Neurol.* 200: 463-479.

- McConnell S.K. (1995) Constructing the cerebral cortex: Neurogenesis and fate determination. *Neuron* 15: 761-768.
- Micheva K. y Beaulieu C. (1997). Development and plasticity of the inhibitory neocortical circuitry with and emphasis on the rodents barrel field cortex: a review. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 75:470-478
- Morgane P.J., Austin K., Siok C., LaFrance R. y Bronzino J.A (1985) Power spectral analysis of hippocampal and cortical EEG activity following severe prenatal protein malnutrition in the rat. *Brain Res.* 354. 211-218.
- Morgane P.J., Austin -LaFrance R., Bronzino J., Tonkiss J., Diaz-Cintra S., Cintra L., Kemper T. y Gatter J.R. (1993) Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 17: 91-128.
- Mountcastle V.B. (1979) An organizing principle for cerebral function: the unit module and the distributed system. En: *The neurosciences: Fourth study program.* Vol. 1 (Schmitt F.O. y Worden F.G. eds) pp 21-42. Cambridge: The MIT press.
- Mountcastle V.B. (1997) The columnar organization of the neocortex. *Brain.* 120: 701-722.
- Nieuwenhuys R. (1994) The neocortex. An overview of its evolutionary development, structure organization and synaptology. *Anal. Embriol.* 190: 307-337.
- O'Leary D.D.M., Ruff N.L., Dick R.H. (1994) Development, critical periods, plasticity and adult reorganizations of mammalian somatosensory systems. *Current Opinion in Neurobiology.* 4: 535-544
- O'Rourke N.A., Dailey M.E., Smith S.J., McConnell S.K. (1992) Diverse migratory pathways in the developing cerebral cortex. *Science* 258: 299-301.
- Pansky B., Allend J. y Budd C.G. (1988) Review of neuroscience. McMillan Publishing Co: New York. pp 40-49.
- Parnavelas J.G. y McDonald J.K. (1983) The cerebral cortex. En: *Chemical Neuroanatomy.* pp 505-550. (Emson P.C. ed). Raven Press: New York.
- Patel A. (1983) Undernutrition and brain development. *Trends Neurosci.* 6: 151-154.
- Patel-Vaidya U. (1985) Ultrastructural organization of posterior and anterior barrels in the somatosensory cortex of rat. *J. of Neurosci. Research* 14 357-371
- Paxinos, G. (1995) The rat nervous system. Academic press. San Diego
- Pearlman A.L. (1985) The visual cortex of the normal mouse and reeler mutant. En: *Cerebral cortex.* Vol. 3 (Peters A and Jones E.G. eds) pp 1-18 New York: Plenum Press.
- Price J.L. (1995) Thalamus. En: *The rat Nervous System.* pp 629-645. (Paxinos G. ed). Academic Press: San Diego.
- Purves D. y Lichtman J.W. (1985) Early events in neural development En: *Principles of neural development.* Sinauer: Sunderland
- Rakic P. (1988) Specification of cerebral cortical area. *Science* 241 170-176
- Rakic P. (1990) Critical cellular events during cortical evolution: radial unit hypothesis En: *The neocortex Ontogeny and phylogeny.* Vol.200 (Finlay B.L., Innocenti G. y Scheich H eds) pp 21-32 New York: Plenum

- Rakic R., Sufer I. y Williams R.W. (1991) A novel cytoarchitectonic area induced experimentally within the primate visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 2083-2087.
- Riddle D., Richards A., Zsuppan F., Purves D. (1992) Growth of the somatic sensory cortex and its constituent parts during postnatal development. *J. Neurosci.* 12: 3509-3524.
- Riddle D.L., Gutiérrez-Ospina G., White L.E. y Purves D. (1993) Differential metabolic and electrical activity in the somatic sensory cortex of juvenile and adult rats. *J. Neurosci.* 13(10): 4193-4213.
- Rhoades R.W., Crissman R.S., Bennett-Clarke C.A., Killackey H.P., Chiaia N.L. (1996) Development and plasticity of local intracortical projections within the vibrissae representation of rat's primary somatosensory cortex. *J. Comp. Neurol.* 370: 524-535.
- Rockel A.J., Hiorns R.W., Powell T.P.S. (1980) The basic uniformity in structure of the neocortex. *Brain* 103: 221-244.
- Salas M., Díaz-Cintra S., Nieto A. (1974) Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Research* 73: 139-144.
- Salas M., Cintra L y Díaz-Cintra S. (1998) Ontogenia del sistema nervioso. En: *Fisiología: Células, órganos y sistemas*. Vol. V (Muñoz-Martínez J. y García X. eds.) pp 31-55. México: Ediciones científicas universitarias.
- Salas M. y Cintra L. (1979) Influence of early food restriction on the responsiveness to novel stimuli in adult rats. *Bol. Est. Med. Biol. Méx.* 30: 201-204.
- Salas M. y Cintra L. (1973) Nutritional influences upon somatosensory evoked responses during development in the rat. *Physiology and Behavior.* 10: 1019-1022.
- Salas M., Ruiz C., Torrero C. y Pulido S. (1983) Neonatal food restriction: its effects on the sleep cycles and the vigil behavior in adult rats. *Bol. Est. Med. Biol. Méx.* 32: 209-215.
- Schlagger B.L. y O'Leary D.D.M. (1994) Early development of somatotopic map and barrel patterning in rat somatosensory cortex. *The Journal of Comparative Neurology* 346: 80-96.
- Senft S. L. y Woolsey T.A. (1991) Mouse barrel cortex viewed as dirichlet domains. *Cerebral cortex* 1: 348-363.
- Shepherd G.M. (1994) *Neurobiology*. pp. 760 Oxford University Press New York.
- Smart J.L. y Dobbing J. (1971) Vulnerability of developing brain. VI. Relative effects of foetal and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. *Brain Res.* 33: 303-314.
- Smith J.L., Schoenwolf G.C. (1997) Neurulation: coming to closure. *TINS* 20 (11): 510-517.
- Sobotka T., Cook M. y Brodie R. (1974) Neonatal malnutrition: Neurochemical, hormonal and behavioral manifestations. *Brain Res.* 65:443-457.
- Stern W.C., Forbes W.B., Morgane P.J. y Resnick O. (1974) Seizure susceptibility and brain amine levels following protein malnutrition during development in the rat. *Brain Res.* 79: 375-384.
- Struhl G., Johnston P., Lawrence P.A. (1992) Control of *Drosophila* pattern by the hunchback morphogen gradient. *Cell* 69: 237-249.

- Sur M. y Cowey A. (1995) Cerebral cortex: function and development. *Neuron* 15: 497-505.
- Swindale N.V. (1990) Is the cerebral cortex modular? *TINS* 13 (12): 487-492.
- Tonkias J. y Galler J.R. (1990) Prenatal protein malnutrition and working memory performance in adults rats. *Behavioral Brain Research*. 40: 95-107.
- Tonkiss J., Galler J.R., Formica R.N., Sheekit-Hale B. y Timm R.R. (1990) Fetal protein malnutrition impairs acquisition of a DRL task in adults rats. *Physiology and Behavior*. 48: 73-77.
- Towe A.L. (1975) Notes on the hypothesis of columnar organization in somatosensory cerebral cortex. *Brain Behav. Evol.* 11: 16-47.
- Vondokmaj R. (1980) Effect of protein malnutrition of development mouse cortical barrels. *The Journal of Comparative Neurology*. 191: 283-294.
- Waite P.M.E. y Tracey D.J. (1995) Trigeminal sensor system. En: *The rat Nervous System*. pp 705-742. (Paxinos G. ed.). Academic Press: San Diego.
- Welker A.S. y Woolsey T.S. (1980) Structure of layer VI in the neocortex of the rat: Description and comparison with the mouse. *J. Comp. Neur.* 158: 437-454.
- White E.L. (1976) Ultrastructure and synaptic contacts in barrels of mouse S1 cortex. *Brain Research* 105: 229-251.
- Woolsey T. A. y Van Der Loos H. (1970) The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. *Brain Research*. 17: 205-242.
- Woolsey T.A. (1990) Peripheral alterations and somatosensory development. En: *Development of sensory system in mammals*. pp 461-503. (Coleman, J.R. ed.). John Wiley & Sons: New York.
- Yip V.S., Zhang W.P., Woolsey T.A. y Lowry O.H. (1986) Quantitative Histochemical and microchemical changes in the adult mouse central system after section of the infraorbital and optic nerves. *Brain Res.* 406: 157-170.
- Zigmond M.J., Bloom F.E., Landis S.C., Roberts J.L. y Squire L.R. (1999). *Fundamental Neuroscience*. pp 775 y 778. Academic Press: San Diego.
- Zilles K. (1990) Anatomy of the neocortex: Cytoarchitecture and myeloarchitecture. En: *The cerebral cortex of the rat*. (Kolb B. and Tees R.C. eds.) pp 77-112. Cambridge: MIT Press.