



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**Forma y distribución de las espinas dendríticas
en neuronas espinosas medianas del
Paleostriatum Augmentatum de la tortuga.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

BIOLOGA

PRESENTA:

LILIANA CAROLINA GONZALEZ SANDOVAL



DIRECTOR DE TESIS: DR. JAIME BARRAL CABALLERO

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla de Baz, Estado de México.

2011



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.

Para la realización del presente trabajo se contó con el financiamiento del **Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT)** de la **Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA)** de la **Universidad Nacional Autónoma de México**, al Dr. Jaime Aurelio Barral Caballero (IN2132310).

El trabajo experimental se realizó en el **Laboratorio de Electrofisiología del Proyecto Neurociencias** en la **Unidad de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias de la Salud y Educación (UIICSE)** de la **Facultad de Estudios Superiores Iztacala** de la **Universidad Nacional Autónoma de México** durante el periodo comprendido de Agosto de 2009 a Diciembre de 2010.

Este trabajo se llevó a cabo bajo la dirección del

Dr. Jaime Aurelio Barral Caballero.

Proyecto Neurociencias, UIICSE. FES Iztacala, UNAM.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, que siempre estuvieron cuando más los necesitaba, por todo el apoyo que me han brindado, por todos los consejos y por guiarme hasta este momento, ya que sin ustedes no habría sido posible que yo estuviera aquí... MUCHAS GRACIAS LOS AMO MUCHO.

A mi hermana, que aunque hay momentos en los que a veces peleamos o ni siquiera nos dirigimos la palabra, siempre has estado cuando lo necesito, con tus consejos, tus chistes, tus travesuras y todas esas risas que hacen de esos momentos los mejores que podemos pasar, te quiero mucho pony.

A mi familia, mi abuelita, mis tías y mis primos, que han visto por mí desde siempre y que parte de este logro es gracias a ellos también, los quiero.

A Isaac, que has estado conmigo en los buenos y los malos momentos durante nuestro paso por la universidad, por todas esas risas, comidas, regaños, pláticas, paseos y juegos que han hecho de mi vida, durante este momento uno de los más felices, gracias por soportar todas mis locuras y por estar conmigo cuando más lo necesitaba... te amo mucho.

A mis compañeros de laboratorio, que más que mis compañeros son mis amigos, gracias por esas comidas después de los seminarios, las horas del café, los juegos, los cumpleaños y los golgis jajajaja. Gracias Aarón por tus consejos y por siempre estar cuando te necesitábamos, Miguel por esos momentos de juegos y por que siempre me molestabas en el microscopio, Janeth por ser una niña muy tierna y muy buena y sobre todo una buena amiga, Ximena por tus pláticas y tus frases frescas que molestaban a Janeth, Karla por tus bromas y tus pláticas que siempre nos hacían reír, los quiero mucho a cada uno de ustedes.

A cada uno de mis compañeros y amigos que tuve durante mi paso por la universidad (algunos del CCH), por todas esas prácticas, trabajos etc, etc, algunos de ellos: Sonia, Fernando, Víctor, Mich, Karina, Johnny, Jael, Ulises, Alex, Diana, Susana, James, José Luis, Beto, Fanny, Héctor y todos los demás que he olvidado mencionar y no por falta de espacio sino por falta de memoria jajajajaja...

A Paty y Chuho, por ayudarme para hacer todos esos "golgis" que como nos costaban trabajo jajaja... muchas gracias.

A cada uno de mis sinodales, quienes me ayudaron a que este trabajo se realizara de manera satisfactoria. Gracias.

Índice

RESUMEN	5
Introducción	6
Estructura y función del estriado	10
Neuronas principales.....	13
Espinass dendríticas.....	14
Microanatomía de las espinas dendríticas.....	16
Antecedentes	25
Hipótesis del trabajo	28
Objetivos	28
Objetivo General	28
Objetivos particulares	28
Material y métodos.....	29
Método de Golgi.....	30
Resultados	33
Soma	34
Dendritas	35
Axones	38
Espinass dendríticas.....	40
Morfología de las espinas dendríticas.....	41
Discusión	48
El Soma	48
Dendritas	48
El Axón.....	50
Las Espinass dendríticas.....	50
Conclusión	55
Referencias.....	56

RESUMEN

Más del 95% de la población neuronal del estriado esta formada por las neuronas espinosas medianas (NEM), las cuales son el blanco de la mayoría de las aferencias extrínsecas e intrínsecas a los ganglios basales y constituyen el centro integrador de la información. En estas neuronas, las espinas dendríticas forman los sitios de contacto postsináptico para la mayoría de las sinapsis excitatorias del sistema nervioso central, haciendo de éstas los lugares ideales para actuar como integradores de la información que influye en el circuito cerebral. Las espinas dendríticas son pequeñas proyecciones membranosas presentes en las dendritas de las neuronas, estas normalmente reciben el aporte de una sinapsis de un axón. La mayoría de las espinas se caracterizan por presentar una cabeza bulbosa, y un cuello delgado que conecta la cabeza hacia el eje de la dendrita. Además de proporcionar sustrato anatómico para el almacenamiento de la memoria y la transmisión sináptica, las espinas también pueden servir para aumentar el número de posibles contactos entre las neuronas. Por lo que el propósito del presente trabajo consistió en realizar una descripción general de las NEM del estriado de la tortuga, haciendo énfasis en la forma y distribución de las espinas dendríticas de estas neuronas, además de realizar una comparación de los datos de acuerdo a la información recabada bibliográficamente en diferentes mamíferos.

Usando del método de impregnación argéntica de Golgi se estudió la morfología de las NEM del estriado de la tortuga, tomando en cuenta: la forma y el tamaño del soma, el número de troncos dendríticos, punto de origen del axón; con respecto a las espinas dendríticas se estudió: la forma y la distribución de las espinas dendríticas, así como la proporción de las espinas encontradas en dicho estudio. El soma de las NEM del estriado de la tortuga presentó tres formas principales, siendo estos: redondos, ovalados y piriformes; el soma de estas neuronas presentó un diámetro de $14.97 \pm 0.21 \mu\text{m}$ (Media \pm E.S.M.) en el eje menor por $18.35 \pm 0.29 \mu\text{m}$ en el eje mayor en promedio. Del soma se observó que surgían en promedio $3.35 \pm 0.08 \mu\text{m}$ troncos dendríticos. De las 251 dendritas que se estudiaron, se encontró que el 29% tuvo solo dos bifurcaciones, mientras que el 28% presentó solo una bifurcación, el 18% de las dendritas no presento ninguna bifurcación, solo una de las dendritas presentó hasta 8 bifurcaciones. El axón de estas neuronas se observó que puede surgir de tres puntos: en el soma, próximo a una dendrita primaria y principio de una dendrita primaria. Las espinas dendríticas de las NEM de la tortuga, se clasificaron en cinco grupos de acuerdo a la forma que presentaron: espinas delgadas, espinas fungiformes, espinas bifurcadas, espinas cortas y espinas en forma de bastón. Se ha reportado en mamíferos que las espinas dendríticas pueden llegar a medir hasta $2 \mu\text{m}$, pero en el caso de las tortugas, se encontraron espinas dendríticas de hasta $8 \mu\text{m}$ de longitud. Las espinas dendríticas más comunes fueron las espinas delgadas (33%) y las espinas fungiformes (28%). La densidad media de espinas encontradas fue de 6.37 espinas/ $10 \mu\text{m}$. Nuestros resultados sugieren que las NEM del estriado de tortuga presentan características similares a las NEM de mamíferos, sin embargo, las neuronas de tortuga presentan menos espinas dendríticas, las cuales pueden presentar una longitud mayor respecto a las espinas de mamíferos. Cuatro de los cinco grupos de espinas dendríticas encontradas han sido reportados en mamíferos, sin embargo, las espinas con forma de bastón hasta el momento no se han reportado en algún otro organismo.

Introducción

Los ganglios basales son un grupo de núcleos subcorticales que se considera constituyen una de las estructuras indispensables del cerebro de los amniotas [Reiner et al, 1998; Smeets y González, 2000], destacándose por jugar un papel muy importante en las funciones motoras, en particular en la planificación, iniciación y ejecución de los movimientos [Graybiel et al 1981; Bolam et al, 2000]. Además se sabe que los ganglios basales están involucrados en funciones no motoras, como las relacionadas a con la motivación. En los amniotas modernos los ganglios basales son similares en la disposición de los circuitos sinápticos, particularmente en las conexiones y neurotransmisores [Bolam et al, 2000; Wilson, 2004], lo que hace pensar que la evolución de los ganglios basales en los cordados está muy conservada [Alexander y Crutcher, 1990; Marin et al, 1998; Medina y Reiner, 1995; Reiner et al, 1998; Smeets y González, 2000]. Con base a las contribuciones de diversos autores [Alexander y Crutcher, 1990; Marin et al, 1998; Smeets y González, 2000; Parent et al, 2000; Wilson, 2004] que se han llevado a cabo sobre los ganglios basales, se han encontrado características que son compartidas por todos los amniotas las cuales son:

- 1) La presencia de un sistema estriatopalidal dorsal y ventral.
- 2) La presencia de 2 poblaciones neuronales química y estructuralmente diferentes.
- 3) Neuronas estriatales intrínsecas.
- 4) Una fuerte entrada dopaminérgica que proviene desde el cerebro medio.
- 5) Conexiones córtico-estriatales y tálamo-estriatales.
- 6) Proyecciones palidales y estriatales hacia el cerebro medio.

7) Proyecciones de los ganglios basales hacia los centros mesencefálico e istmo promotor.

Desde el punto de vista del desarrollo el término de “ganglios basales” hace referencia a los componentes estriatales y palidales del telencéfalo basal. La división dorsal de los ganglios basales consiste en el estriado (o caudado-putamen), el globo pálido (GP, segmento externo del globo pálido en primates), el núcleo entopeduncular (EP, o segmento interno del globo pálido en primates, Gpi), el núcleo subtalámico (STN) y la sustancia nigra (SN) (Fig. 1). Esta última se divide en dos porciones principales la sustancia nigra *pars compacta* dorsal (SNc) en la cual se localizan las neuronas dopaminérgicas y la sustancia nigra *pars reticulata* (SNr). Además de estas estructuras que se encuentran involucradas en las funciones motoras y asociativas también se encuentran las estructuras de la porción ventral de los ganglios basales (estriado ventral o núcleo accumbens, el pálido ventral y el área tegmental ventral) [Chang et al. 1982; Alexander y Crutcher, 1990; Medina y Reiner, 1995; Reiner et al, 1998; Wilson, 1998; Bolam et al, 2000].

En mamíferos, aves y reptiles los GB se encuentran localizados en la parte central o ventral del telencéfalo detrás de las áreas corticales (Fig. 2). En todos los amniotas los ganglios basales se encuentran divididos en una parte dorsal o somática, relacionada con funciones sensorimotoras y una parte ventral o visceral/límbica, relacionada con las funciones límbicas [Medina y Reiner, 1995; Marín y Smith, 1998].

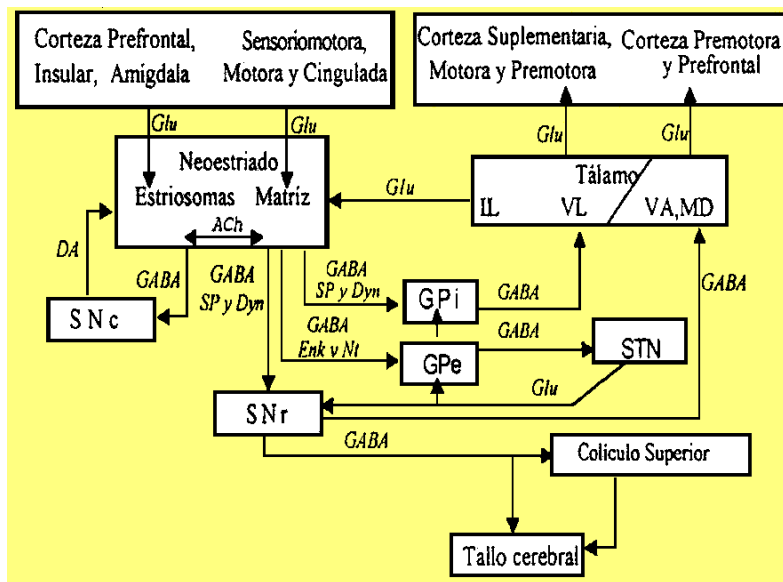


Figura 1: Principales aferentes y eferentes de los ganglios basales. En el diagrama se muestra la compartimentalización de la entrada cortical hacia el núcleo estriado, tal como se observa en los mamíferos actuales. Las neuronas de proyección de los estriosomas proyectan hacia la sustancia nigra pars compacta (SNc) y reciben aferentes de ella. Las neuronas espinosas medianas de la matriz proyectan hacia la sustancia nigra pars reticulata (SNr) así como al globo pálido interno (GPi) y externo (GPe). El GPi proyecta hacia el tálamo ventral lateral, y éste a su vez envía terminales a regiones motoras de la corteza. El GPe mantiene proyecciones recíprocas al núcleo subtálamo (STN), quien a su vez proyecta hacia la SNr. La SNr proyecta al tálamo ventral anterior (VA) y dorsomedial (MD). Estos núcleos proyectan hacia las regiones límbicas de la corteza. En el diagrama se muestran los sistemas neuroquímicos que participan en la mayoría de estas vías: Acetilcolina (ACh), dopamina (DA), dinorfina (Dyn), encefalinas (Enk), glutamato (Glu), ácido γ -aminobutírico (GABA), neurotensina (Nt) y sustancia P (SP) Tomado de [Barral, 2001]

En algunos mamíferos como los felinos y los primates, el estriado dorsal se encuentra conformado por el núcleo caudado (dorsomedial) y el putamen (ventrolateral). En aves, el estriado dorsal, comprende dos campos contiguos de células, llamadas "paleostriatum augmentatum" (localizado lateralmente) y el lóbulo parolfactorio (localizado medialmente) [Medina y Reiner, 1995]. Estas dos partes del estriado en aves no son directamente comparables con las dos porciones del estriado en felinos y primates. El estriado ventral en aves incluye la parte rostral y ventral del lóbulo paraolfactorio (tubérculo olfatorio). El pálido dorsal de las aves no posee subdivisiones y es llamado paleostriado primitivo; mientras que el pálido ventral en aves es llamado paleostriado ventral. La nomenclatura usada para los ganglios basales en

reptiles, varía de acuerdo al grupo de reptiles del cual se trata, pero es típicamente similar a lo reportado para aves y mamíferos denominándose estriado lateral o dorsolateral. En la mayoría de las especies de reptiles, se considera que tanto en el estriado dorsal y el pálido dorsal, no presentan subdivisiones [Medina y Reiner, 1995; Carpenter, 1981; Marín, 1998].

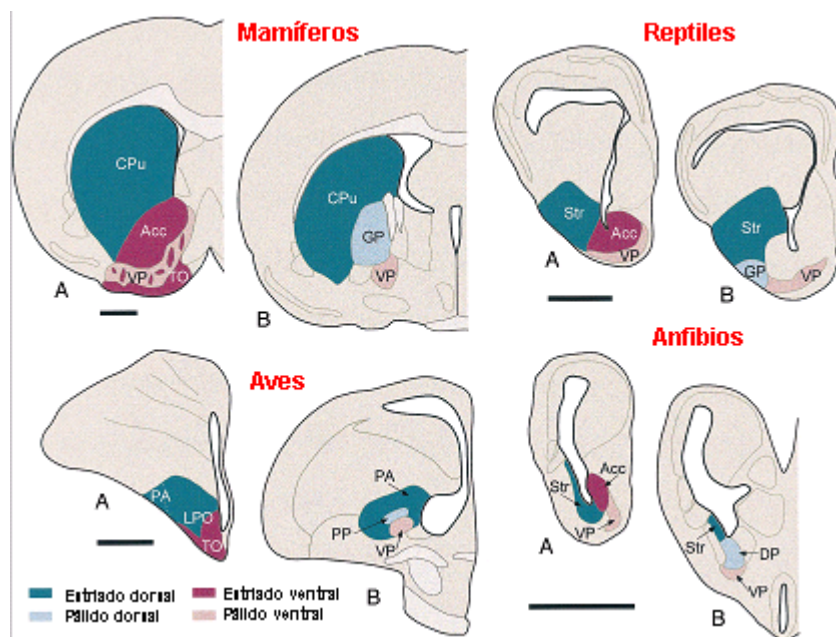


Figura 2: Sistema dorsal estriatopalidal dorsal y ventral. Los ganglios basales se encuentran organizados en un sistema estriatopalidal dorsal y ventral en todos los tetrápodos. Para cada clase de vertebrado, se muestran dos secciones representativas transversales del cerebro (A: rostral, B: caudal), ilustra las posiciones relativas de las estructuras estriatales y palidales. Aunque en la literatura se han dado diferentes nombres a las estructuras homologas, los mismos colores han sido usados para comparar las regiones en cada tetrápodo, para simplificar la identificación; escala 1 mm [Modificado de Marín y Smeets, 1998].

Estructura y función del estriado

En anamniotas el paleostriado corresponde a la porción estriada del cerebro en los amniotas. En estos últimos el estriado se divide en paleostriado y neostriado, los cuales en conjunto forman un mecanismo integrador y motor, que es responsable en gran parte de la actividad motora estereotipada de estos organismos (Fig. 3) [Marín et al, 1998; Reiner et al, 1998].

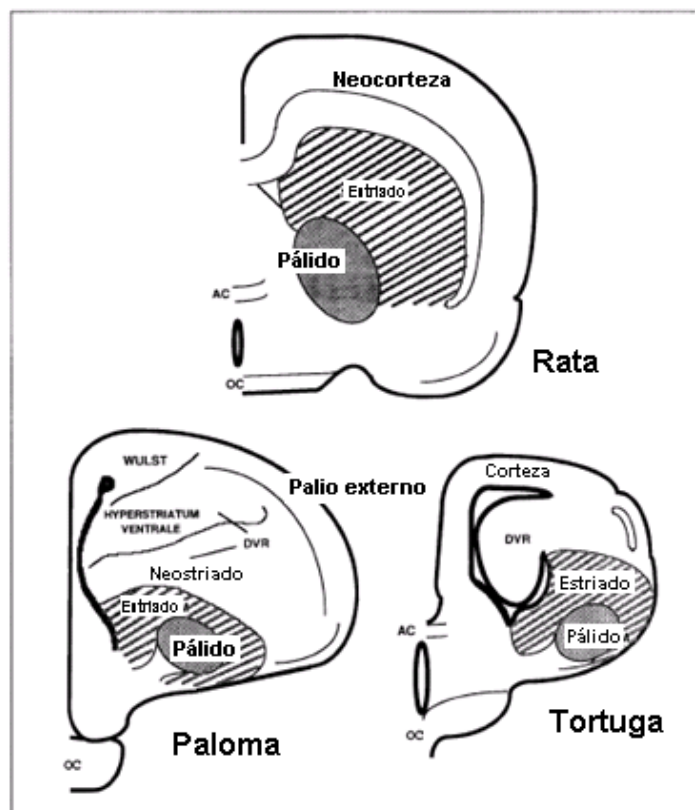


Figura 3: Dibujos esquemáticos de hemisecciones transversales a través de los ganglios basales de tres clases representativas de amniotas: rata (mamífero); paloma (ave) y tortuga (reptil). En los tres los ganglios basales comprenden un estriado y un pálido en el telencéfalo central/ o basal, detrás de las regiones corticales. Abreviaciones AC: comisura anterior; DVR: cresta ventricular dorsal y OC: quiasma óptico. [Modificado de Medina y Reiner, 1995]

En todos los amniotas [Reiner et al, 1998] y particularmente en los mamíferos [Wilson, 2004], la porción estriatal de los ganglios basales es rica en acetilcolinesterasa

(AChE) y acetil colin-acetiltransferasa (CHAT), así como en sustancia-P (SP), encefalinas (ENK) y dopamina (DA) (Reiner et al, 1998). Aunque, las diferentes estirpes celulares no parecen estar distribuidas uniformemente en el estriado de todos los amniotas [Reiner et al, 1998]. En lo que se refiere a los mamíferos, el estriado medial está organizado en dos tipos de compartimientos distinguibles neuroquímicamente y morfológicamente, conocidos como los parches o estriosomas y la matriz o matriosomas [Graybiel et al, 1981]. Sin embargo, esto no ha sido demostrado para los saurópsidos (aves y reptiles), por lo que hasta donde sabemos la compartimentalización parece ser una característica exclusiva de los mamíferos. También se ha reportado la presencia de AChE, receptores a opiáceos tipo μ y calbindina (características presentes en las neuronas del estriosoma de mamíferos) en neuronas de proyección de aves y reptiles [Reiner et al, 1998; Bolam et al, 2000].

Aunque se considera que la evolución de los ganglios basales, esta conservada, siguiendo la historia de los vertebrados mandibulados, se han encontrado algunos cambios en las entradas estriatales de los mamíferos. Por ejemplo en los anfibios, la mayor entrada estriatal proviene desde el tálamo dorsal, pero en reptiles y aves reciben múltiples proyecciones aferentes mayormente glutamatérgicas excitatorias provenientes de la corteza [Parent et al. 2000]. En mamíferos las entradas provienen principalmente del neocorteza y del tálamo [Aboitz y Montiel, 2007].

En reptiles las proyecciones desde los ganglios basales hacia el tálamo dorsal aparecen menos desarrolladas, aunque han poseído un desarrollo independiente de las conexiones palidotálamicas en aves [Aboitz y Montiel, 2007]. Otra diferencia en las vías de salida, está relacionada con las vías que conectan a los ganglios basales con el

tectum mesencefálico. Existen múltiples vías para esta conexión, de las cuales la más importante es la vía ventral hacia la sustancia nigra, la cual está presente en todos los tetrápodos, así como una vía dorsal que se dirige hacia el núcleo pretectal. Las vías pretectales se encuentran más desarrolladas en anuros, algunas lagartijas, tortugas, cocodrilos y aves, aunque es débil o se encuentra ausente en urodelos, algunas lagartijas, serpientes y mamíferos, esto sugiere que puede ser un rasgo muy variable [Marín et al. 1998].

Dentro del estriado se han reportado diferentes estirpes neuronales, dentro de estas estirpes se encuentran a las neuronas espinosas medianas de proyección (forman el 95% de las neuronas presentes dentro del estriado) y las neuronas intrínsecas o interneuronas. Para mamíferos aves y reptiles, se han reportado tres tipos de interneuronas (Reiner, 1998; Bolam et al 2000; Wilson, 2004) estas son:

- 1.- Interneuronas colinérgicas: representan menos del 2 % de las células presentes en el neostriado; expresan la enzima AChE, su soma mide de 50-60 μm de diámetro y exhiben grandes árboles dendríticos con un diámetro aproximado de 500 μm . Esta interneuronas constituyen una de las mayores fuentes de acetilcolina del sistema nervioso central (Wilson, 2004).
- 2.- Interneuronas paralbuminérgicas: representan del 3 % - 5 % de las células presentes en el neostriado, son células no espinosas que liberan GABA, su soma tiene un diámetro aproximado de 10-30 μm , asimismo presentan varicosidades en sus dendritas y poseen campos dendríticos locales y extendidos (Wilson, 2004).
- 3.- Interneuronas somatostatinérgicas: son neuronas de tipo bipolar que presentan dendritas lisas que rara vez ramifican. Tienen un disparo regular con una pronunciada adaptación y expresan la enzima sintasa de óxido nítrico (Wilson, 2004).

Neuronas principales

La mayor parte de los estudios sobre la morfología celular en los ganglios basales se han realizado en mamíferos, particularmente, en gato, rata, ratón, mono y humano [Kemp y Powell 1971; DiFiglia et al, 1976; Braak y Braak, 1982; Chang et al, 1982; Graveland et al, 1985; Iwahori y Kiyota 1987; Yenlink et al, 1991; Walter et al, 1993; Avila-Costa, 2001] en todos ellos las neuronas principales o de proyección del neostriado se conocen como neuronas espinosas medianas debido al gran número de espinas dendríticas que cubren sus dendritas (ver Tabla I). Los cuerpos celulares de estas neuronas miden de 12 a 20 μm de diámetro, a partir del soma surgen un número pequeño de troncos dendríticos con diámetros de 2 a 3 μm . Los cuerpos celulares y el inicio de los troncos dendríticos (usualmente las primeras 20 μm) por lo general carecen de espinas, aunque en algunas ocasiones se pueden observar espinas en el soma, segmentos iniciales del axón y dendritas proximales, pero éstas son generalmente más pequeñas en comparación a las espinas que se encuentran en los troncos dendríticos (Nimchinsky et al. 2002). Los troncos dendríticos comúnmente comienzan a bifurcar a partir de los primeros 10 a 30 μm , originando dendritas espinosas secundarias, pero se puede dar el caso de que las dendritas no presenten bifurcaciones; las dendritas pueden llegar a tener una longitud que oscila entre 180-240 μm [Wilson, 2004; Kita y Kitai, 1994; Kemp y Powell, 1971; Iwahori y Kiyota, 1987; Levine et al. 1986; Graveland y DiFiglia, 1985]. Estas neuronas proyectan hacia el Globo Pálido y la Sustancia Nigra y contienen GABA como neurotransmisor; además emiten colaterales que establecen contactos sinápticos con las dendritas, las espinas de las dendritas y el soma de otras neuronas espinosas medianas [Wilson, 2004].

Espinas dendríticas

Durante mucho tiempo se pensó que las espinas dendríticas eran un producto artefactual de la técnica de impregnación de Golgi, producidos por una especie de cristalización en forma de agujas que se depositaba de forma eventual en la superficie de las neuronas. No fue sino hasta 1888 cuando Santiago Ramón y Cajal propuso que las espinas dendríticas servían para conectar los axones con las dendritas, es decir, que estos elementos son la clave en la estructura y función de las neuronas [Fisher et al, 1998; Sorra y Harris, 2000; Lippman y Dunaevsky, 2004; García-López et al, 2007]. Los trabajos realizados por Cajal, siempre presentaban una constancia en sus resultados; por ejemplo, en las observaciones que realizó pudo constatar que las espinas dendríticas siempre estaban ausentes en el soma y en la región proximal de la dendrita; la distribución de las espinas no siempre era homogénea a lo largo de la dendrita; por lo tanto las espinas no necesariamente tenían que ser precipitados de plata, ya que se encuentran en cualquier parte de la neurona con la misma intensidad. Estas observaciones las realizó en varias especies (perro, gato, pollo, humano, etc.) y en varios tipos de células, como en las células piramidales de la corteza cerebral, en células de Purkinje, neuronas piramidales del hipocampo, etc. Para corroborar que en efecto las espinas dendríticas no se trataban de precipitados de plata producidos por la técnica de Golgi, realizó diferentes tinciones, entre estas: el método del Golgi-Cox, el método de azul de Turnbull, el método de azul de metileno (Fig. 4) [Lippman y Dunaevsky, 2004; García-López et al, 2007].

En la actualidad las espinas dendríticas se consideran como los principales sitios de plasticidad sináptica en el cerebro [Fisher et al, 1998]. Estudios realizados *in vivo* en

las espinas dendríticas han demostrado que no son estructuras estáticas, sino dinámicas y pleomórficas (Dunaevsky et al. 1999; Portera-Calliau y Yuste, 2001; Valverde, 2002; Kasai et al. 2003), esto se debe a que el citoesqueleto de la espina dendrítica presenta altas concentraciones de actina, confiriéndole la capacidad de de cambiar su forma y su longitud [Fisher et al, 1998; Matus, 2005].

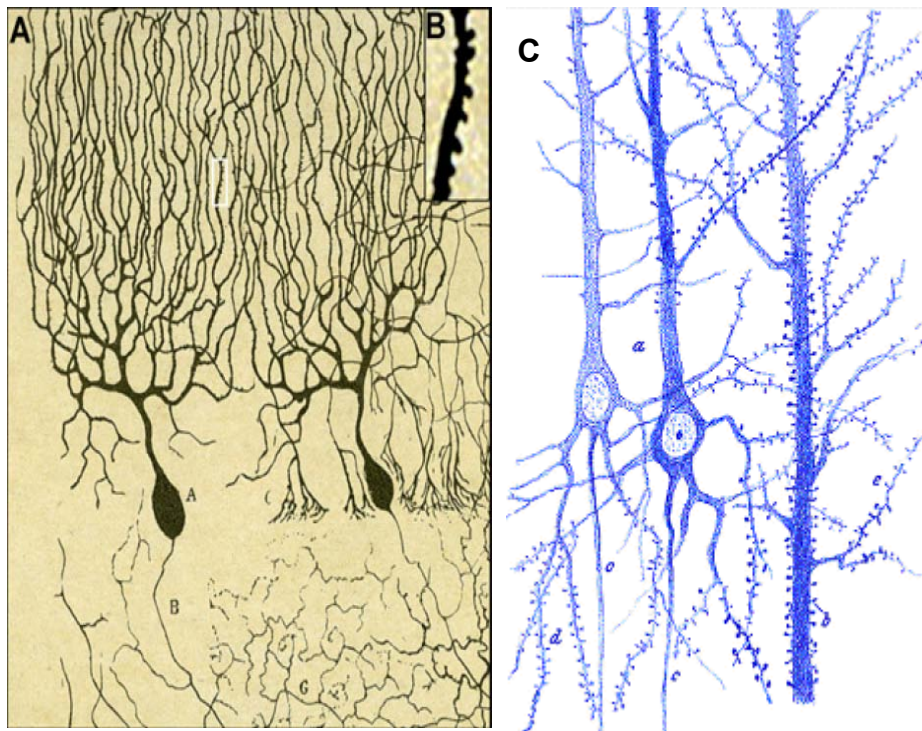


Figura 4: Dibujos publicados por Cajal: (A y B) dibujo mostrando espinas dendríticas de las células de Purkinje de una gallina; (C) dibujo mostrando células piramidales del corteza de un conejo adulto, teñidas con azul de metileno [Modificado de García-López et al, 2007].

Las espinas dendríticas forman los sitios de contacto postsináptico para la mayoría de las sinapsis excitatorias e inhibitorias del sistema nervioso central [Shepherd, 2004], por lo que se considera a las espinas dendríticas como lugares idóneos para actuar como integradores de la información que influye en el sistema nervioso. Además de actuar como enlaces entre los axones y las dendritas, las espinas

han atraído un gran interés como mediadores de la plasticidad conectiva, siendo considerados como la base del aprendizaje y la memoria; por lo que cambios relacionados con la morfología y el número de espinas están asociados a cambios en la actividad neuronal. También se ha estipulado que la forma del potencial de membrana de las espinas dendríticas determina las sinapsis de entrada, al igual que determinan la dinámica intracelular de segundos mensajeros como el calcio [Harris y Stevens, 1989; Fisher et al. 1998; Harris y Stevens, 1998; Dunaevsky et al. 1999; Hayashi y Majewska, 2005; Hering y Sheng, 2001; Yuste y Bonhoeffer, 2001; Yuste y Bonhoeffer 2004; Nimchinsky et al. 2002; Kasai et al. 2003; Carlisle y Kennedy, 2005; Matus, 2005].

El estudio de las espinas dendríticas constituye una línea de investigación relevante porque: A) representan el principal sitio postsináptico en donde se establecen las sinapsis excitatorias e inhibitorias, B) son elementos clave en la plasticidad sináptica y C) sus alteraciones constituyen el correlato anatomopatológico más consistente en diversos tipos de deficiencias mentales [Chang, 1952; Koch y Zador, 1993, Fisher et al. 1988; Harris y Stevens 1998; Grutzendler et al. 2002; Hayashi y Majewska, 2005; Fiala y Harris 2008].

Microanatomía de las espinas dendríticas

Las espinas dendríticas en los mamíferos se caracterizan por tener longitudes que oscilan desde las 0.5-2 μm , están formadas por un cuello el cual puede ser largo o corto, grueso o delgado, recto o curvo, cilíndrico o irregular, ramificados o no ramificados con todas las combinaciones; poseen una cabeza, la cual puede ser grande o pequeña, con formas esféricas, ovaladas e incluso irregulares [Harris y Katar, 1994;

Harris, 1999; Hering y Sheng, 2001; Yuste y Bohoeffer, 2004]. Esta heterogeneidad en la estructura de las espinas dendríticas, se puede presentar tanto en las espinas de una sola dendrita, así como en las espinas de todas las neuronas; en general las espinas dendríticas se pueden agrupar en cinco formas generales: delgadas, cortas, en forma de hongo, en forma de copa y filopodios (Fig. 5) [Jones y Powell 1969; Wilson et al, 1983; Koch y Zador, 1993; Harris y Kater, 1994; Sorra y Harris, 2000; Hering y Sheng, 2001; Portera-Calliau y Yuste, 2001; Nimchinsky et al. 2002; Lippman y Dunaevsky, 2004; Yuste y Bonhoeffer, 2004; Fiala y Harris, 2008].

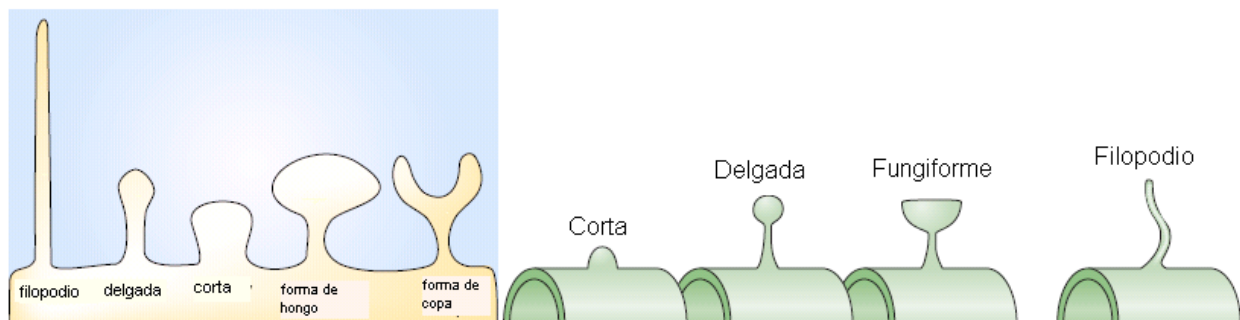


Figura 5: Clasificación morfológica de las espinas dendríticas [Modificado de Hering y Sheng, 2001; Yuste y Bonhoeffer, 2004].

Estas formas presentes en las espinas se pueden agrupar en tres grupos generales:

- Filopodios: son apéndices dendríticos más largos y delgados que las espinas (miden entre 3 y 40 μm de longitud) generalmente no tienen 'cabezas' (Fig. 6). Los filopodios tienden a ramificarse y curvarse más frecuentemente que las espinas, por lo general se encuentran en etapas tempranas del desarrollo, incluso se ha llegado a pensar que estas

estructuras dan origen a las espinas dendríticas [Fiala et al. 1998; Harris, 1999; Portera- Calliau y Yuste, 2001].

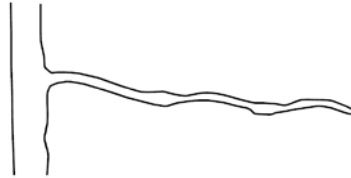


Figura 6: Dibujo esquemático donde se puede observa la morfología que presentan los filopodios (Tomado de Fiala y Harris, 2008)

- Espinas sésiles: este tipo de espinas son comúnmente llamadas espinas cortas, debido a que no presentan un cuello tan desarrollado como las espinas pedunculadas (Fig. 7) [Hering y Sheng, 2001; Fiala y Harris, 2008].
- Espinas pedunculadas: la cabeza de estas espinas puede llegar a medir hasta $0.6 \mu\text{m}$; comúnmente se dice que estas espinas presentan una forma de hongo. En este grupo se presentan dos variaciones:
 - a) Espinas delgadas con una cabeza pequeña (Fig. 7 a)
 - b) Espinas delgadas con una cabeza grande (Fig. 7 b)

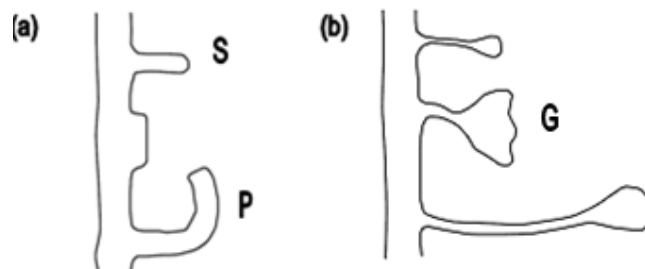


Figura 7: Dibujo esquemático mostrando en (a) espinas sésiles (S) y pedunculadas con cabeza pequeña (P). en la figura (b) se muestran espinas pedunculadas con cabeza grande (G) [Modificado de Fiala y Harris, 2008].

En algunos casos las espinas se han llegado a clasificar en dos grupos, de acuerdo al tamaño de la cabeza: espinas pequeñas (filopodios y espinas delgadas) y espinas grandes (espinas cortas, fenestradas y fungiformes) [Kasai et al. 2003]. En algunos casos las espinas dendríticas pueden ramificarse o bifurcarse, es decir, estas espinas presentan un solo cuello, el cual se bifurca para dar origen a dos cabezas, generalmente este tipo de espinas no son muy comunes en las neuronas espinosas medianas, aunque se les puede observar con mayor frecuencia en dendritas que presenten una alta densidad de espinas dendríticas (Fig. 8). Cada ramificación que se presenta en estas espinas es un patrón presináptico único y cada ramificación tiene la forma y las características de una espina simple [Fiala y Harris, 2008; Comery, et al. 1996; Chicurel y Harris, 1992].

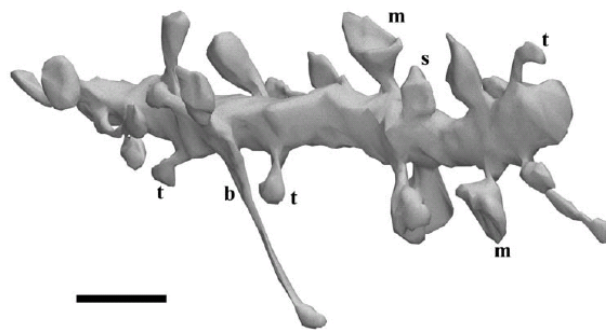


Figura 8: morfologías de las espinas dendríticas; cortas (s); en forma de hongo (m); delgadas (t); espinas bifurcadas o ramificadas (b). Escala 1 μm [Tomado de Fiala y Harris, 2008].

Incluso en los trabajos realizados por Santiago Ramón y Cajal, es posible observar al menos cuatro de los principales tipos de espinas que actualmente se reconocen como: sésiles, delgadas, fungiformes y espinas ramificadas o bifurcadas. Además pudo constatar que las espinas dendríticas presentaban diferentes tamaños en

las diferentes áreas del cerebro donde se presentaran (Fig. 9) [García-López et al, 2007].

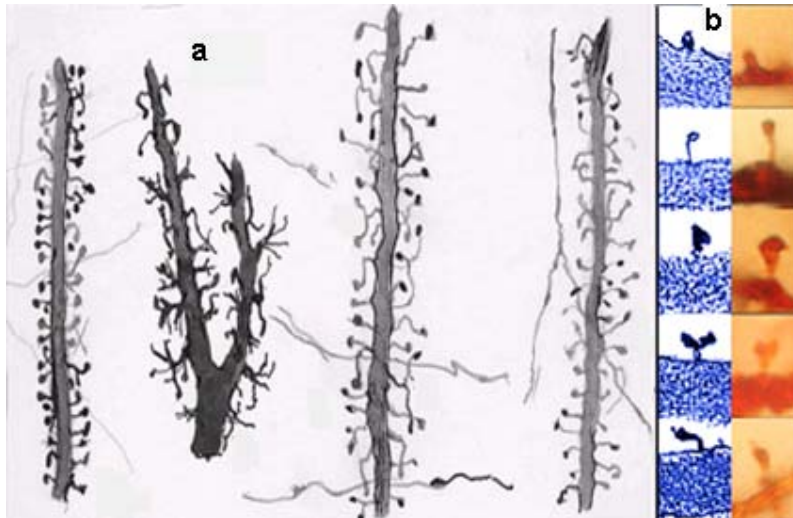


Figura 9: a) Dibujo original de Cajal mostrando filopodios y espinas dendríticas; b) Diferentes tipos de espinas dendríticas dibujadas por Cajal (en azul) comenzando en el cuadro superior izquierdo: sésiles, delgadas, fungiformes, ramificadas, espinas con espínulas; la columna del lado derecho corresponde a las mismas espinas señaladas en la columna izquierda, pero utilizando la técnica de Golgi [Modificado de García-López et al, 2007].

Las espinas se caracterizan por la ausencia de mitocondrias, microtubulos o ribosomas. Todas las espinas dendríticas presentan retículo endoplásmico liso, este organelo se encuentra relacionado con la síntesis membranal y el almacenamiento de calcio. Las espinas más complejas, contienen sacos de retículo endoplásmico liso laminado, el cual contiene un material denso, esta estructura se conoce como el “aparato espinoso”. También carecen de neurofilamentos, pero tanto la cabeza como el cuello de la espina presentan filamentos de actina, éstos en el cuello están orientados a lo largo del aparato espinoso, mientras que en la cabeza forman una cadena densa de filamentos (Fig. 10) [Koch y Zador, 1993; Harris y Kater, 1994; Harris, 1999; Hering y Sheng, 2001; Ethell y Pasquale, 2005; Matus, 2005].

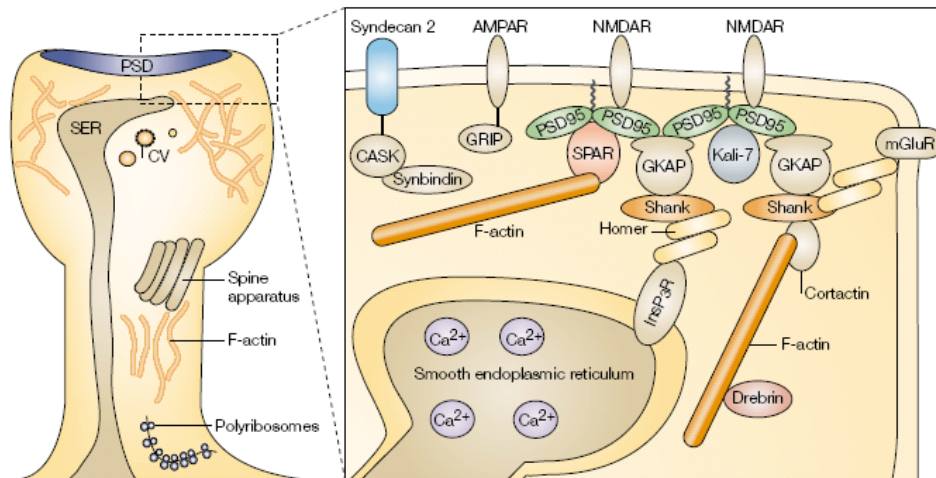


Figura 10: Estructura de la espina dendrítica: contienen varios organelos incluyendo retículo endoplásmico liso (SER). La función del SER en las espinas es la de funcionar como un almacén de calcio intracelular, donde el calcio puede ser liberado en respuesta a una estimulación sináptica. En algunas espinas largas es muy común observar una estructura conocida como “aparato espinoso”, este es un organelo caracterizado por pilas de SER. La función del aparato espinoso aun es desconocida, aunque este organelo podría actuar como un depósito o como un relevo para las proteínas de membrana. Vesículas cubiertas o con apariencia lisa, algunas veces son observadas en las espinas (particularmente en espinas grandes), como cuerpos multivesiculares, estas vesículas no solo se encuentran en la cabeza de la espina, algunas veces dan la apariencia de fusionarse con la membrana sináptica. Han sido detectados en los ejes dendríticos polirribosomas, además también en la base de las espinas y ocasionalmente se extienden dentro de las espinas, indicando que la traducción de proteínas podría ocurrir inmediatamente dentro del compartimiento post sináptico [Tomado de Hering y Sheng, 2001].

Existen múltiples teorías acerca de la función de las espinas dendríticas:

1. **Como sitios de conexión sináptica:** las espinas se caracterizan por ser los sitios donde se llevan a cabo las sinapsis tipo I, (sinapsis asimétricas asociadas a vesículas esféricas). Posteriormente se realizó una correlación morfológica de la sinapsis tipo I con la sinapsis excitatorias glutamatérgicas. También se demostraron las sinapsis tipo II, las cuales son presumiblemente sinapsis inhibitorias, este tipo de sinapsis se presentan exclusivamente en el cuello de la espina [Shepherd, 1996; Harris y Stevens, 1999; Hering y Sheng, 2001; Ethell y Pasquale, 2005].

2. **Como sitios de daño cerebral:** las espinas dendríticas son sensibles a una gran variedad de condiciones patológicas, por ejemplo:

- La desaferenciación de la vía visual provoca la degeneración de las espinas de las neuronas del núcleo geniculado lateral [Globus y Scheibel, 1967; Valverde, 1967].
- En el síndrome de Down las espinas suelen ser delgadas y muy pequeñas, mientras que en el síndrome de Patau las espinas presentan formas irregulares y son elongadas [Fiala et al. 2002; Fiala y Harris, 2008].
- En la enfermedad de Parkinson, las neuronas espinosas medianas del estriado suelen perder las espinas dendríticas (Ingham et al, 1989). También en la enfermedad de Alzheimer ocurre una pérdida de espinas dendríticas en las neuronas del Hipocampo [Proaño y Aguilar, 2004].
- En la esquizofrenia y retraso mental son algunas otras enfermedades, en las cuales las espinas dendríticas se ven gravemente afectadas, modificándose la densidad o la morfología de éstas [Nimchinsky et al. 2002].

La naturaleza de los cambios que presentan las espinas frente a estos desórdenes aun no es entendida; esto podría ser resultado de desórdenes primarios de las neuronas o las espinas; por el desuso o uso excesivo de las sinapsis de las espinas; o los efectos tóxicos del Ca^{2+} [Shepherd, 1996]

3. **La espina como unidad de desarrollo sináptico:** la función especial de las espinas es la de proporcionar un aumento en el área receptiva sináptica, es decir, las espinas son objetivos específicos para determinar las entradas sinápticas [Shepherd, 1996; Sorra y Harris, 2000].

4. **La espina como una unidad local dendrítica de entrada y salida:** la espina puede servir como una unidad sináptica de entrada y salida de una sinapsis, esto es debido a que la espina dendrítica al ser un compartimiento neuronal pequeño es capaz de realizar una operación completa de entrada y salida en una sola sinapsis.[Shepherd, 1996; Sorra y Harris, 2000].

5. **Espinas como micro compartimentos de Ca^{2+} :** La función primaria de las espinas dendríticas es la de proveer micro compartimentos para segregar sustancias químicas postsinápticas como el calcio. La compartimentalización ocurre debido a que el cuello de las espinas dendríticas separa a las espinas de las dendritas algunos micrómetros. Por lo tanto, la espina dendrítica, y en particular la cabeza de la espina puede actuar como un integrador eficiente de diferentes señales postsinápticas [Harris y Stevens, 1998; Schiller et al, 1998; Hering y Sheng, 2001; Yuste y Bonhoeffer, 2001; Yuste y Bonhoeffer 2004; Nimchinsky et al. 2002 Hayashi y Majewska, 2005].

6. **La espinas como mediadoras de la atenuación del potencial sináptico pasivo:** Chang en 1952 propuso que los cuellos largos y delgados que presentan las espinas están asociados a una alta resistencia eléctrica que atenuaría el efecto de la sinapsis en el resto de la célula nerviosa, por lo tanto el posible efecto de la presencia de cuellos largos se limita a la propagación de potenciales postsinápticos excitatorios (EPSP's).

7. **Las espinas como promotoras de la sumación lineal de los potenciales postsinápticos excitatorios:** La sumación lineal es promovida por la distribución de las sinapsis en las diferentes ramas dendríticas, esta misma regla se aplica a la distribución de las sinapsis en las espinas, esta linearización se cree que promueve la asociación entre las sinapsis coactivas que subyacen a la potenciación a largo plazo (LTP) [Harris y Kater, 1994; Hortwitz, 1981; Yuste y Bonhoeffer, 2001; Hayashi y Majewska, 2005].

8. **Las espinas dendríticas como neuroprotectores:** los efectos que producen las altas concentraciones de Ca^{2+} provocados por la actividad sináptica ha sugerido que el principal papel de las espinas dendríticas es prevenir a las dendritas de los incrementos de Ca^{2+} , los cuales pueden ser tóxicos para la célula [Shepherd, 1996]. Por lo tanto el principal mecanismo de la espinas, es atrapar Ca^{2+} , en el retículo endoplásmico, en especial en el aparato espinoso [Hering y Sheng, 2001].

Antecedentes

Se ha descrito que los somas de las neuronas espinosas de los mamíferos pueden presentar varias formas, entre los más comunes se encuentran: somas redondos, somas piriformes, ovalados, poligonales, esferoides y piramidales [Iwahori y Kiyota, 1987]. Algunos autores han reportado que las neuronas espinosas del neostriado en rata presentan típicamente 4 dendritas; 5 a 6 dendritas en el gato, de 3 a 8 dendritas en el ratón, 4 a 5 dendritas en el mono y 10 dendritas en el humano. [Wilson, 2004; Walter et al, 1993; Yenlink et al, 1991; Graveland et al, 1985; Braak y Braak, 1992; Kemp y Powell, 1971; Iwahori y Kiyota, 1987; Wilson et al, 1983]. Las dendritas de las neuronas espinosas medianas generalmente tienen diámetros entre 0.5 y 1.0 μm , presentando sus mayores diámetros en las ramificaciones más próximas de la dendrita hacia el soma (Wilson et al, 1983). En algunos casos las dendritas pueden no presentar bifurcaciones. En aquellas dendritas que presentan ramificaciones, estas surgen después de las primeras 20 μm . Las dendritas pueden llegar a presentar longitudes de 180-240 μm [Wilson, 2004; Kemp y Powell, 1971].

Las dendritas dentro de las primeras 20 μm a partir de que surgen del soma presentan una baja densidad de espinas, el mayor incremento de la densidad de espinas se presenta entre los 20-60 μm desde el soma, la mayor densidad de las espinas dendríticas se presenta a partir de los 50-100 μm . La densidad de las espinas siempre decrece con respecto a la distancia [Wilson, 2004; Wilson et al, 1983; Kemp y Powell, 1971]. Se ha observado que la distancia media del soma a la aparición de la primera espina es de 25 μm en el humano, 22 μm en el mono [Graveland et al, 1985],

20-25 μm en la rata y en el gato [Chang et al, 1982; Dimova et al, 1980; Kemp y Powell, 1971]. En algunos mamíferos como el humano, el mono y el gato se ha reportado que la densidad media de espinas en las neuronas espinosas medianas es de 7.2 ± 1.2 espinas/ $10 \mu\text{m}$, 15 ± 1 espinas/ $10 \mu\text{m}$ y 26 espinas/ $10 \mu\text{m}$ respectivamente (Tabla 1) [Graveland et al, 1985; Braak y Braak, 1982; Dimova et al, 1980; Kemp y Powell, 1971].

La ubicación de las espinas dendríticas está dada por su capacidad de regular la eficiencia sináptica (Comery et al, 1996). Las espinas dendríticas no presentan alguna variación sistemática en cuanto a su distribución a lo largo de las dendritas [Yuste y Bonhoeffer, 2004]. Usualmente se llegan a observar algunas espinas en el soma y segmentos iniciales de los axones, pero estas se caracterizan por ser mucho más pequeñas y sésiles (Nimchinsky et al. 2002). Las espinas dendríticas pueden presentar varios tamaños y formas, tanto el cuello y la cabeza de las espinas varían de una espina a otra [Wilson et al, 1983].

Con ayuda de observaciones en microscopia electrónica y de luz se han descrito tres tipos de espinas en el neostriado rata [Wilson et al, 1983], de mono [Difiglia et al, 1976; Difiglia et al, 1982], humano [Graveland, 1980] y gato [Kemp y Powell, 1971]:

- a. Delgadas o pedunculadas
- b. Sésiles o cortas
- c. Espinas con forma de hongo

En el caso de las neuronas espinosas del neostriado de rata y de gato, se ha descrito la presencia de espinas múltiples o bifurcadas. Las espinas múltiples o bifurcadas, pueden jugar un papel en la extensión de la aportación entre neuronas vecinas sin estimular. Las espinas múltiples pueden reflejar contactos sinápticos paralelos que modifican relativamente fuerzas que existen entre las conexiones con una

terminal presináptica original que modifique los patrones de conexión neuronal. Los contactos sinápticos múltiples reflejan un mecanismo apropiado para grupos de conexiones sinápticas sin un circuito neuronal para obtener un incremento en su control regulatorio. Incluso se ha relacionado la densidad de espinas ramificadas con el aprendizaje [Comery et al, 1996].

	Soma (diámetro)	Soma (forma)	Troncos dendríticos	Distancia media soma-1° espina	Densidad media de espinas	Origen del axón	
Humano	17 μ m	esferoide, ovalado, Piramidal	10	25 μ m	7.2 \pm 1.2 espinas/10 μ m	soma, porción inicial de la dendrita	(Braak y Braak, 1982; Graveland et al, 1985)
Mono	15-20 μ m	ovalado, piramidal	4 a 5	22 μ m	15 \pm 1 espinas/10 μ m	soma, cercano a una dendrita	(Walter et al, 1993; Yenlink et al, 1991; Difiglia et al, 1976)
Ratón	15-18 μ m	ovalado, redondo	3 a 7		22.9 \pm espinas/ μ m	soma, porción inicial de la dendrita	(Iwahori y Kiyota, 1987; Avila-Costa, comunicación personal)
Rata	10-18 μ m	ovalado, poligonal Irregular	4 a 7	20-25 μ m	10 \pm 0.14 espinas/10 μ m	soma, porción inicial de la dendrita	(Avila-costa, 2001; Chang et al, 1982)
Gato	12-18 μ m	redondo poligonal	5 a 6	20 μ m	26 espinas/20 μ m	soma, porción Inicial de la dendrita	(Kemp y Powell, 1971)

Tabla 1. Cuadro comparativo de las principales características de las neuronas espinosas medianas de diferentes especies de mamíferos

Hipótesis del trabajo

Los ganglios basales en mamíferos, aves y reptiles modernos son muy similares en cuanto a conexiones y neurotransmisores, lo cual sugiere que se trata de estructuras conservadas desde el punto de vista evolutivo [Medina y Reiner, 1995]. Dentro del circuito básico de los reptiles se ha reportado que estos presentan las mismas estirpes neuronales que se han reportado para mamíferos [Reiner, 1998], entre éstas las neuronas espinosas medianas. Si la evolución de los ganglios basales, así como de las neuronas espinosas medianas ha sido altamente conservada entonces, se podría esperar que las neuronas espinosas medianas de los reptiles presenten las mismas características reportadas para mamíferos, en especial en la forma, tamaño y distribución de las espinas dendríticas.

Objetivos

Objetivo General

- Describir las neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga *Trachemys scripta elegans*.
- Describir la anatomía de las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga *Trachemys scripta elegans*.
- Comparar las neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga con lo reportado en mamíferos.

Objetivos particulares

- Describir la morfología general de las neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga *Trachemys scripta elegans*.

- Describir forma tamaño y número de las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga *Trachemys scripta elegans*.
- Establecer una comparación de las mediciones realizadas de las neuronas espinosas medianas de la tortuga *Trachemys scripta elegans*, con datos reportados para diferentes mamíferos.

Material y métodos

Se utilizaron cuatro tortugas adultas de la especie *Trachemys scripta elegans*, sin distinción de sexo (al menos 15 cm de longitud del plastrón, con una edad aproximada de uno a tres años, Hutchinson, 1992). Para el presente proyecto se ha tenido especial cuidado en utilizar reptiles que no se encuentran protegidos ni en peligro de extinción, para ello las tortugas se adquieren legalmente a proveedores reconocidos por SEMARNAT, posteriormente se criaron en condiciones óptimas en el Laboratorio de Herpetología de la FES Iztacala.

Los organismos fueron anestesiados con pentobarbital, posteriormente fueron decapitados para llevar a cabo la extracción de cerebro, excluyendo los bulbos olfatorios y el cerebelo, tomándose el estriado para procesarlo con el método de Golgi (este método con el fin de analizar la citología de las células), para su observación y toma de fotografías se utilizó un microscopio óptico.

Método de Golgi

A) **Induración del tejido:** Las muestras se fijaron en paraformaldehído al 4% y se dejaron por una semana, posteriormente se sumergieron en una mezcla de tetraóxido de osmio y dicromato de potasio (1 g de tetraóxido de osmio – 7 g de dicromato de potasio en 300 ml de agua destilada) por 7 días a temperatura ambiente.

B) **Impregnación argéntica:** Las muestras se lavaron con una solución de nitrato de plata, para remover el exceso de la solución de osmio-dicromato, una vez realizado esto se colocaron en solución de nitrato de plata al 0.75% por un día.

C) **Cortes:** para la realización de los cortes, se removió el exceso de la solución de nitrato de plata a los fragmentos con papel filtro y se encastraron en bloques de parafina. La parte libre de la muestra se bañó con alcohol al 95% y se realizaron cortes de 120 μm de grosor, lubricando constantemente la cuchilla con alcohol. Los cortes se deshidrataron en dos baños de alcohol al 96%, dos baños de alcohol absoluto y fueron aclarados mediante aceite de esencia de clavo y xilol (10 minutos para cada paso). Finalmente los cortes fueron montados para su posterior observación y toma de fotografías con ayuda del microscopio óptico [Kemp y Powell 1971; Bishop 1982; Chang 1982, Bolam, 1984; Iwaori y Kiyota, 1987; Ávila-Costa, 2001].

De los cortes obtenidos se seleccionaron muestras aleatorias de al menos 25 neuronas espinosas medianas por cada tortuga. Para reconocer la ubicación del estriado de la tortuga se utilizó el atlas morfológico del cerebro de la tortuga de Powers y Reiner, 1980.

De las neuronas observadas se tomaron en cuenta las siguientes variables (en micrómetros):

- Soma: diámetro (eje mayor / eje menor)
- Dendritas primarias (número)
- Longitud total de las dendrita
- Número de bifurcaciones
- Diámetro de cada bifurcación presente en las dendritas, en caso de no presentar bifurcaciones, se tomó el diámetro de la dendrita cercano al soma, y el diámetro de la dendrita distal al soma.
- Número de espinas dendríticas proximales, medias y distales (# espinas / 10 μm)
- Morfología de las espinas dendríticas (forma y tamaño)
- Toma de fotografías

Los datos de los parámetros obtenidos, se cuantificaron como medias y errores estándar (ver apéndice), una vez analizados los datos, se compararon con datos reportados bibliográficamente en mamíferos.

Con las fotografías que se lograron tomar de las neuronas espinosas medianas, así como de las espinas dendríticas, se realizaron reconstrucciones fotográficas, haciendo énfasis en la morfología de cada variable estudiada como se aprecia en la figura 11.

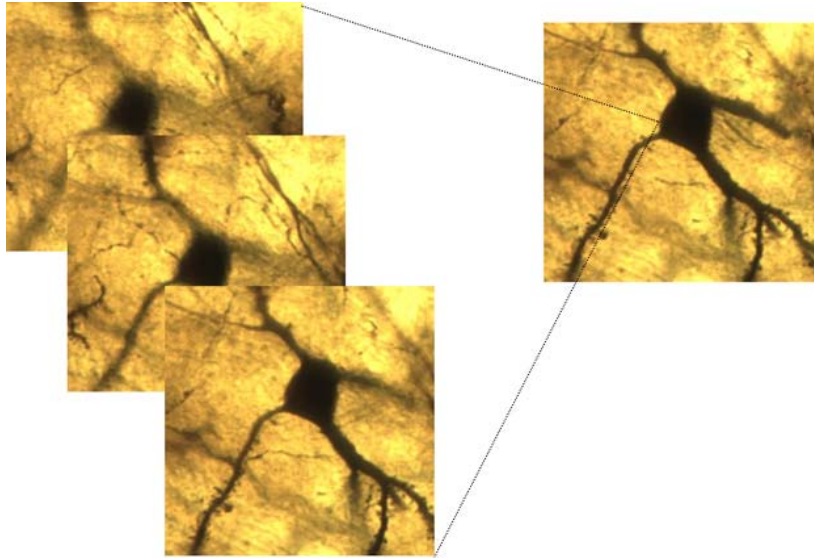


Figura 11: Fotografía donde se muestra, un modelo de reconstrucción fotográfica de un segmento de una neurona; este tipo de reconstrucción se realizó tomando fotografías de diferentes planos de la neurona, para posteriormente unirlos y así mostrar una imagen completa de un segmento específico de cada neurona estudiada.

Resultados

La mayoría de las neuronas localizadas en el estriado dorsolateral de la tortuga (*Trachemmys scripta elegans*) se caracterizaron por ser neuronas espinosas medianas (NEM's). Estas neuronas presentaron formas variadas de soma, la longitud del soma fue muy poco variable al igual que el número de troncos dendríticos primarios y las bifurcaciones que estos presentaron, en algunos casos se pudo observar el cono axónico (Fig. 12).

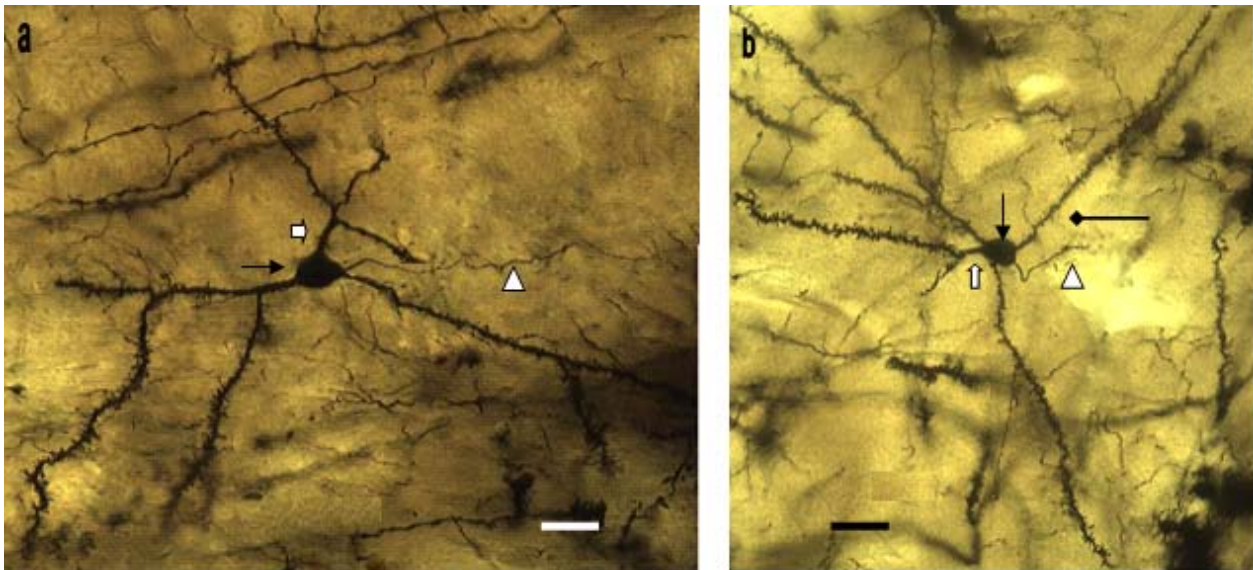


Figura 12. Microfotografías de neuronas espinosas medianas (NEM's) típicas en el estriado de tortuga: reconstrucción fotográfica donde se observan las características principales de este tipo de neuronas, comenzando por el soma (Figura a y b; flechas negras) y el surgimiento de los troncos dendríticos (Figura a y b; flechas blancas) de manera aleatoria alrededor del soma, la mayoría de las dendritas se caracteriza por tener al menos una bifurcación, pero en algunos casos existen dendritas en las cuales no se presentan bifurcaciones (figura b; flecha de rombo). Se puede apreciar como la densidad de las espinas dendríticas varía de acuerdo a la longitud de la dendrita, así como el grosor de las dendritas. En el caso de estas neuronas, se observa la ubicación a partir de la cual pueden comenzar a surgir los axones (Figura a y b; triángulos blancos), del soma, cercano a una dendrita o incluso dentro del primer segmento del tronco dendrítico. Barra de escala 20 μm .

Soma

En general los cuerpos celulares de las NEM's presentaron tres formas distintas siendo estas: a) redondos, b) ovalados, c) piriformes (Fig. 13). De cada soma que se observó se tomo en cuenta las dimensiones que estos presentaban midiendo en promedio $14.97 \pm 0.21 \mu\text{m}$ de ancho por $18.35 \pm 0.29 \mu\text{m}$ de alto (Fig. 14); solo en algunos casos, ciertas neuronas presentaron diámetros mayores o menores con respecto a la población en general.

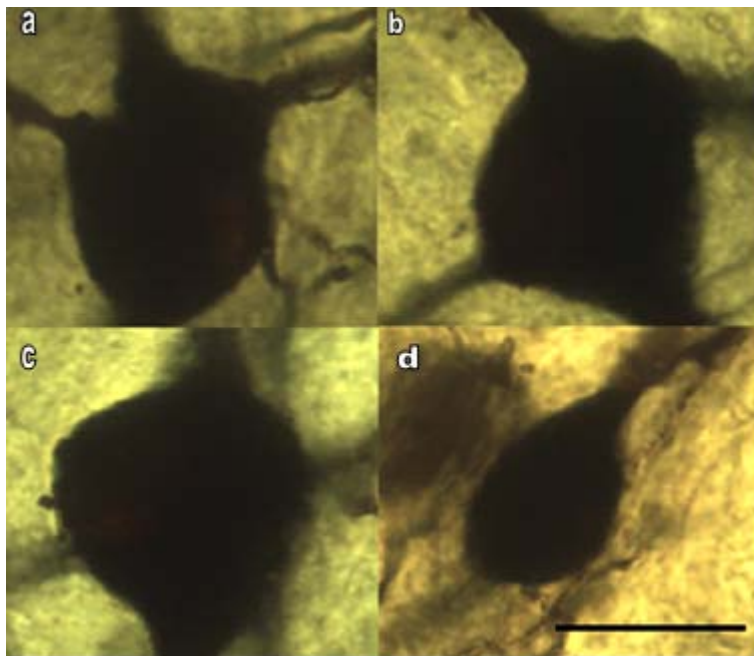


Figura 13. Somas de neuronas espinosas medianas (NEM's) de tortuga: reconstrucciones fotográficas de neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga en las cuales se observan las distintas formas que presentaron los somas de estas neuronas; (a) piriforme, (b, c) redondo, (d) ovalado. Barra de escala $20 \mu\text{m}$.

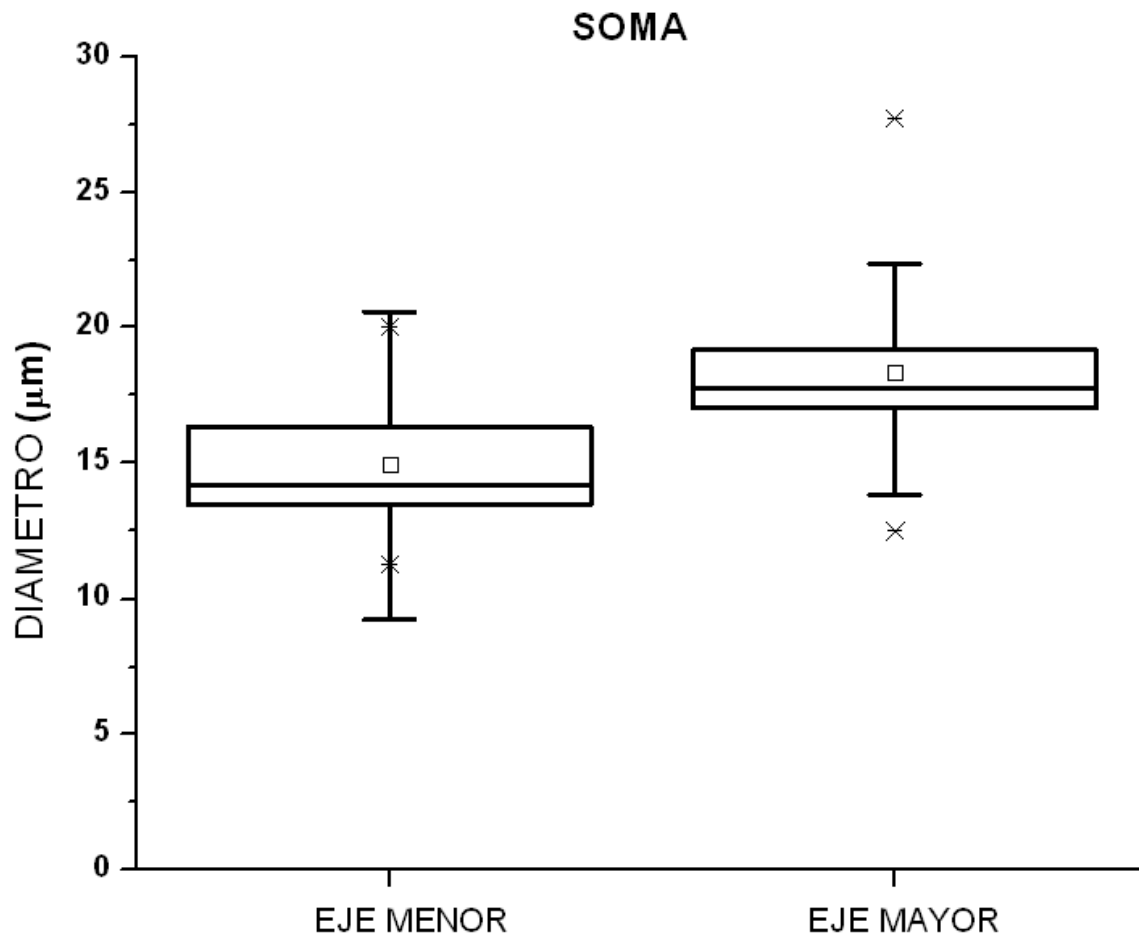


Figura 14 Gráfica de caja que muestra el Diámetro del soma: Se muestra la tendencia de los diámetros que presentaron los somas de las neuronas espinosas medianas de tortuga.

Dendritas

Las dendritas primarias de las NEM's comienzan a surgir de manera aleatoria alrededor del soma, estas neuronas presentan 3.35 ± 0.08 dendritas primarias en promedio, los cuales se bifurcan a su vez en dendritas secundarias y terciarias. De las 100 neuronas que se contabilizaron (25 neuronas por cada tortuga), únicamente se pudieron estudiaron 251 dendritas, (esto se debió a que por la fragilidad que

presentaban los tejidos, estos se llegaron a fragmentar durante el proceso de fijado o tinción, por consiguiente fragmentando a las dendritas).

De cada dendrita se tomó en cuenta el número de bifurcaciones que presentaban. De las 251 dendritas que se contabilizaron, 74 presentaron dos bifurcaciones mientras que 71 únicamente una bifurcación; 32 dendritas mostraron tres bifurcaciones, 16 dendritas con cuatro bifurcaciones, nueve dendritas con cinco bifurcaciones y 4 dendritas con seis bifurcaciones; solo una dendrita de las 251 que se contaron presentó 8 bifurcaciones. Al igual que lo ya reportado para mamíferos en las NEM's de tortuga también se encontraron dendritas sin bifurcación alguna, siendo 44 del total de las dendritas contabilizadas (Fig. 15).

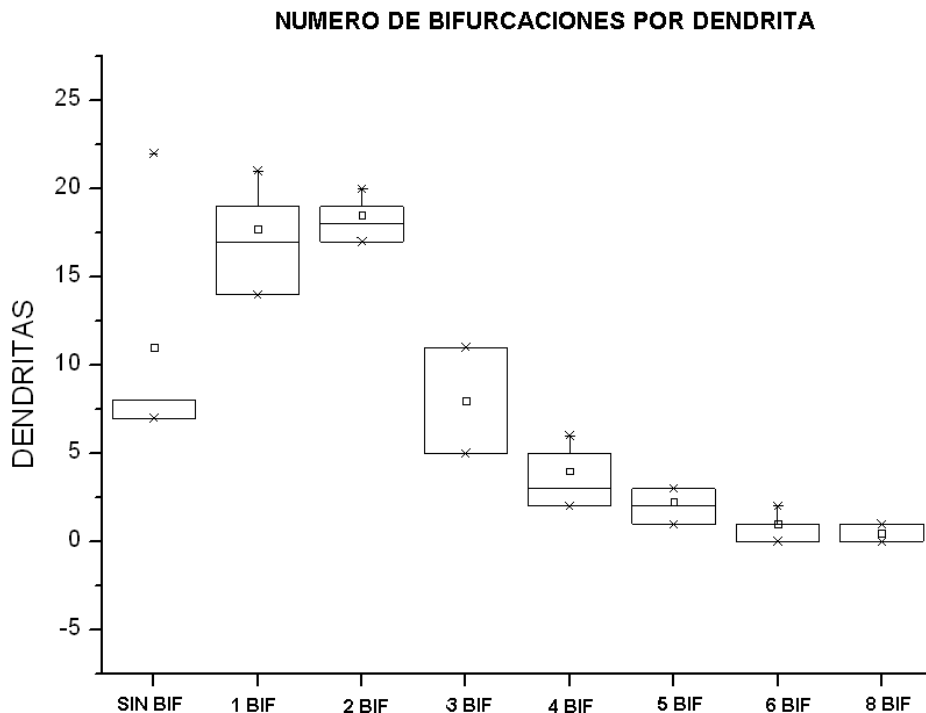


Figura 15. Gráfica de caja de la proporción de bifurcaciones por dendrita: Se muestra la proporción de bifurcaciones que presentan cada una de las 251 dendritas que se contabilizaron. Las dendritas con una o dos bifurcaciones fueron las más abundantes, así como las dendritas sin bifurcación, en un solo caso fue posible observar una dendrita con hasta ocho bifurcaciones.

Una vez que las dendritas primarias comienzan a surgir del soma estas inician su primera bifurcación a partir de las primeras $12.07 \pm 0.82 \mu\text{m}$, llegando a presentar $3.18 \pm 0.07 \mu\text{m}$ de diámetro en promedio (Tabla 2). Se notó que el inicio de las dendritas primarias presenta una baja densidad de espinas, mientras que en algunos casos era común que no se encontraran espinas dendríticas (Fig. 16).

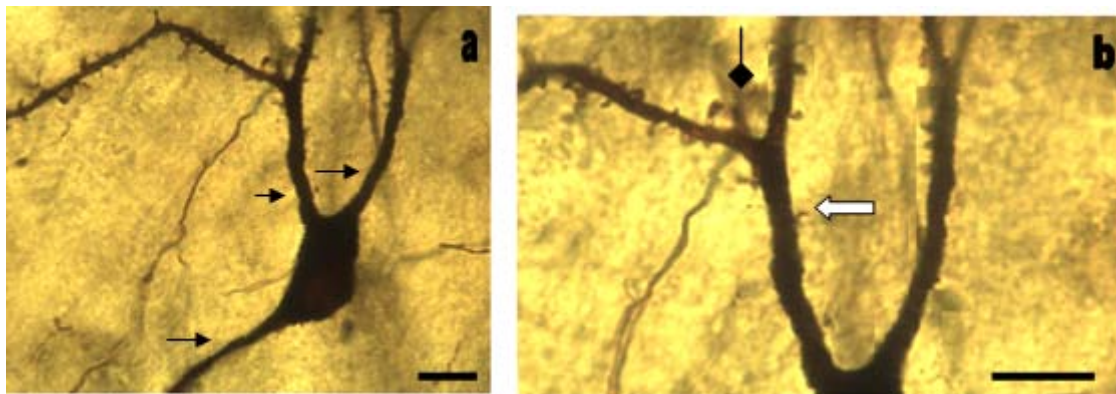


Figura 16. Troncos dendríticos de las neuronas espinosas medianas (NEM's) de la tortuga: Reconstrucciones fotográficas donde se muestra en (a) el inicio de los troncos dendríticos (flechas negras), estos se caracterizan por tener un mayor grosor al surgir del soma; en (b) se muestran a mayor aumento los troncos dendríticos de la neurona en la foto (a) donde se observa una baja o nula densidad de espinas, nótese que las espinas dendríticas comienzan a aparecer cerca de la primer bifurcación de las dendritas (flecha blanca), a partir de este punto las espinas dendríticas (flecha de rombo) comienzan a incrementar su densidad. Barra de escala $20 \mu\text{m}$.

Cuanto más distales son las dendritas con respecto al soma, la densidad de espinas dendríticas es mucho mayor; ya en el segmento final de las dendritas, la densidad de espinas comienza a decrecer, al igual que el diámetro de las dendritas el cual es mucho menor en comparación al inicio de la dendrita primaria llegando a presentar un diámetro de $1.16 \pm 0.09 \mu\text{m}$ (Fig. 17 y 18).

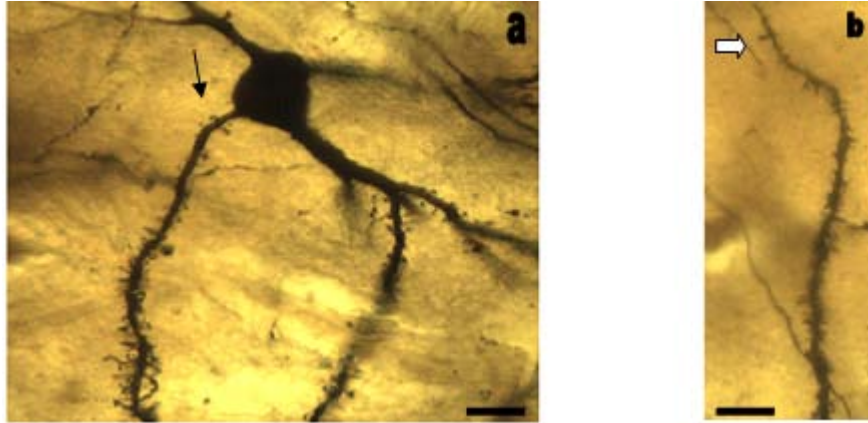


Figura 17. Segmento inicial y final de las dendritas de las neuronas espinosas medianas (NEM's) de tortuga: En la microfotografía (a) se observa el inicio de una dendrita espinosa, nótese que presenta un grosor mayor, así como la densidad de espinas al inicio es menor (flecha negra); en la microfotografía (b) se muestra el segmento final de la dendrita, el diámetro de ésta es mucho menor con respecto al inicio, la densidad de espinas al final de la dendrita comienza a decaer (flecha blanca), sin embargo,, no son tan escasas como al inicio del tronco dendrítico. Barra de escala 20 μm .

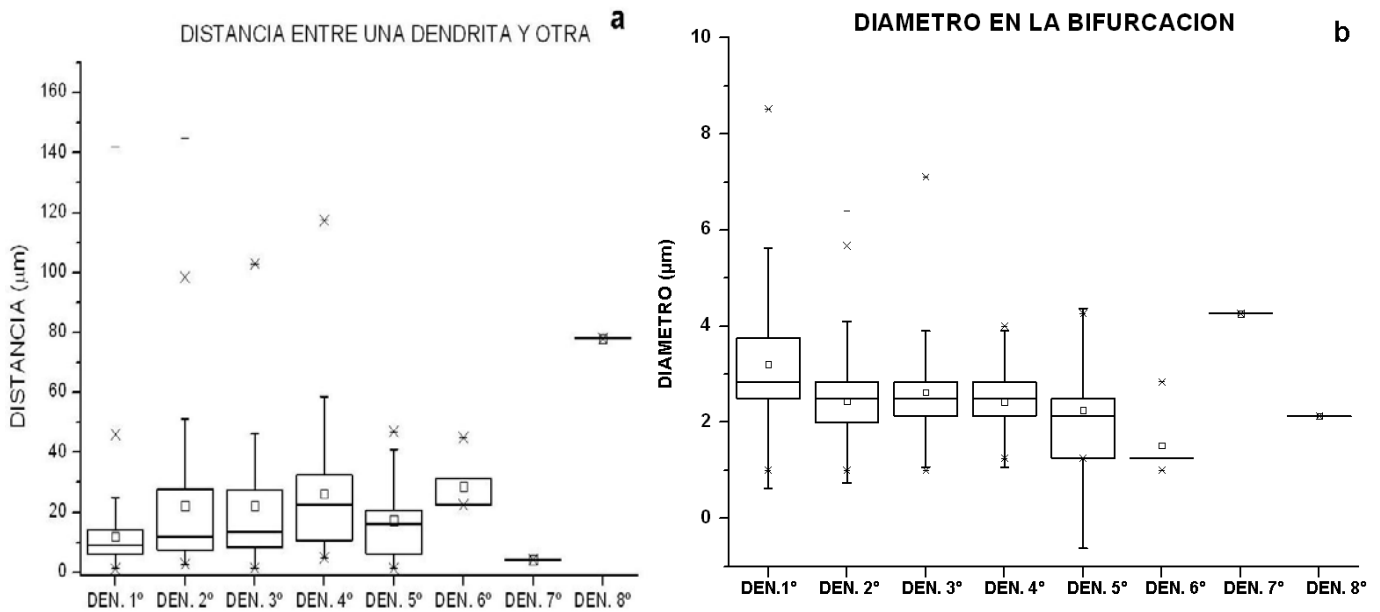


Figura 18. Gráfica de caja de la distancia entre cada dendrita y diámetro de cada dendrita: En (a) se muestra la gráfica de caja del diámetro de cada bifurcación; nótese como el diámetro de tronco dendrítico va decayendo conforme este se encuentra más alejando del soma; pero cuando este comienza a surgir, el diámetro que presenta es mucho mayor. En (b) se observa la distancia media que existe entre una bifurcación a otra.

Axones

El axón de las NEM's se caracteriza por surgir del soma, cercano a una dendrita o en el primer segmento de la dendrita primaria (Fig. 19). Una vez que aparece el axón, este tiene un diámetro de $1.30 \pm 0.11 \mu\text{m}$ en promedio. Debido a la fragilidad que presentaban los tejidos, únicamente se pudo obtener el lugar del cual surgía el axón, en algunos casos fue posible seguir un segmento del axón antes de que este apareciera fragmentado.

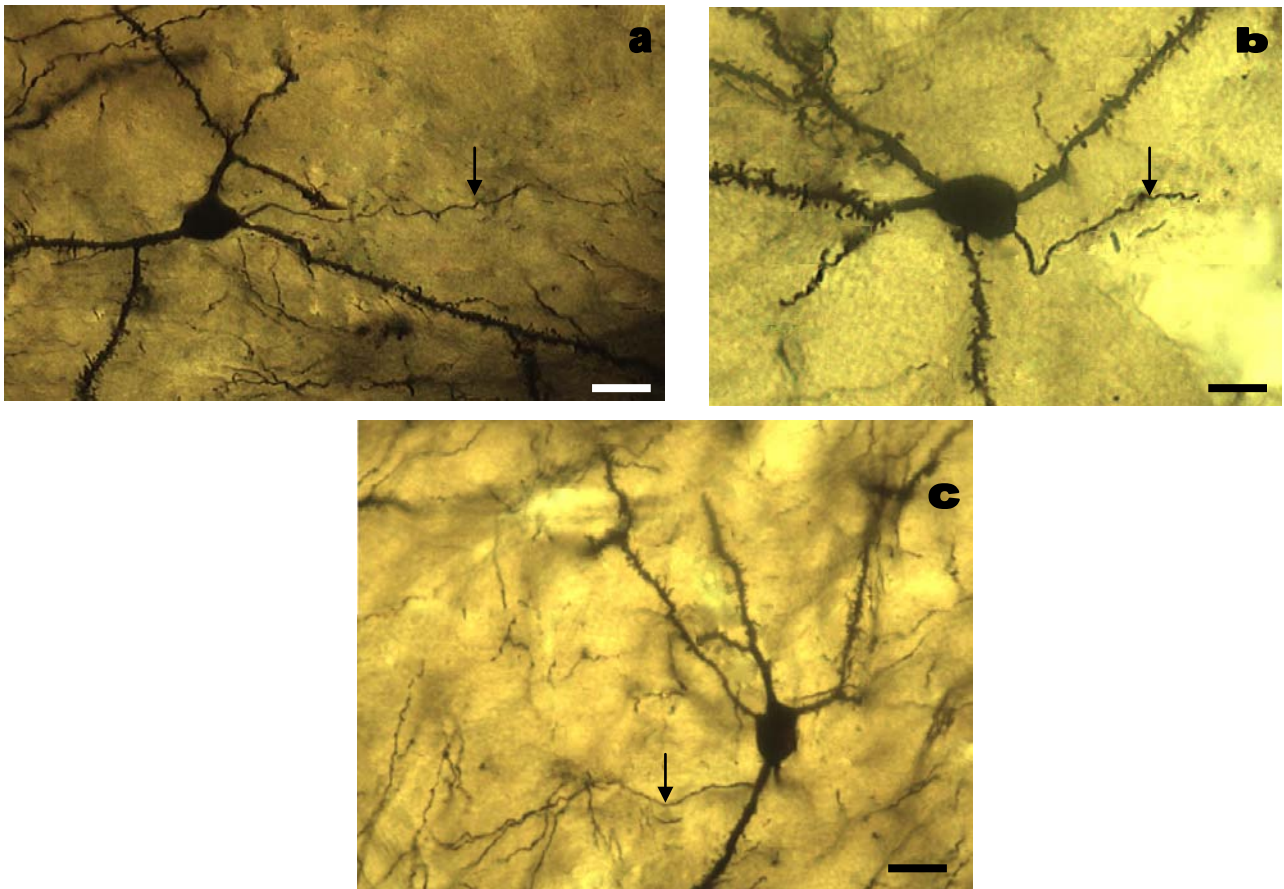


Figura 19. Microfotografías de los axones de las neuronas espinosas medianas (NEM's) de tortuga: Reconstrucción fotográfica en la que se observa el punto a partir del cual comienza a surgir el axón (flechas), ya sea cercano a una dendrita (a); del soma (b) o en la primera porción de la dendrita primaria (c), antes de que se presente la primera bifurcación de la dendrita. Barra de escala 20 μm .

Tomando en cuenta el lugar de cual surgía el axón de estas neuronas, se obtuvieron los porcentajes mostrados en la figura 20, siendo lo más frecuente que el axón surgiera del soma.

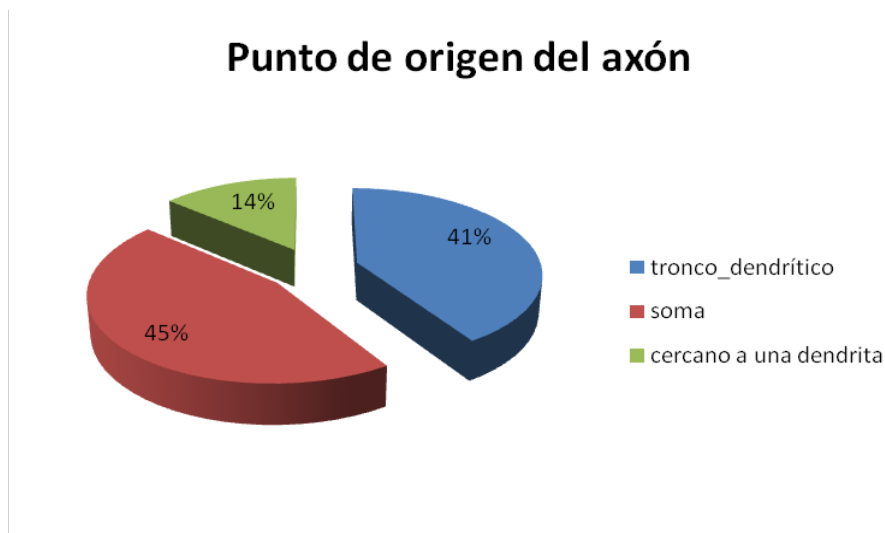


Figura 20. Punto de origen del axón: Los axones de las NEM's de tortuga se caracterizaron por surgir de tres puntos principales de la neurona siendo el principal punto de surgimiento el soma con el 45%; posteriormente el segmento inicial de los troncos dendríticos con el 41%, mientras que el 14% surgió cercano a una dendrita.

Espinas dendríticas

Las espinas dendríticas en las NEM's del estriado de la tortuga se observaron como pequeñas protuberancias que surgen a lo largo de las dendritas, presentando diversas formas y longitudes. La forma en que estas espinas dendríticas surgen en las dendritas es de manera aleatoria y heterogénea, es decir, nunca se encuentran más de dos espinas juntas con la misma forma ni la misma longitud.

Una vez que aparecen las dendritas primarias, las espinas dendríticas también comienzan a surgir, sin embargo, las espinas que se observan son muy escasas y en algunas ocasiones no se presentan espinas hasta después de que se dé la primera bifurcación de las dendritas (Fig. 21).

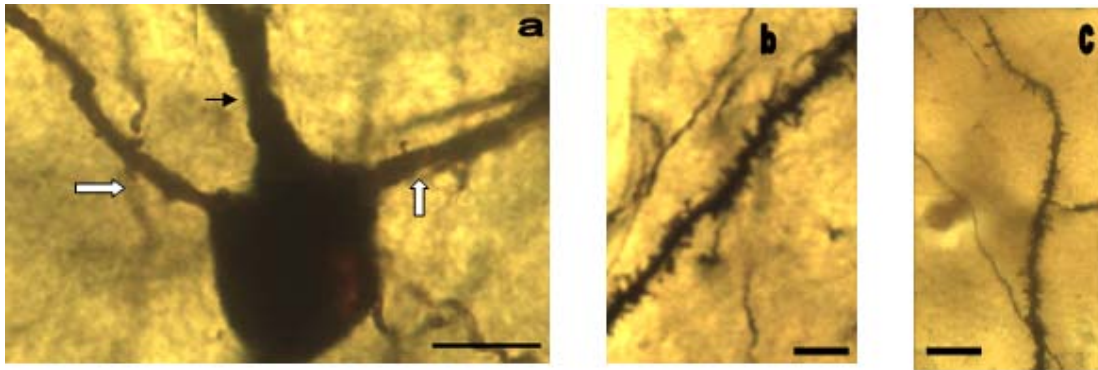


Figura 21. Microfotografías de diferentes segmentos de dendritas de una NEM de tortuga: En (a) se observa una reconstrucción fotográfica del inicio de los troncos dendríticos, nótese que en uno de los troncos dendríticos no se presenta ninguna espina (flecha negra), mientras que en los dos troncos dendríticos restantes (flechas blancas), las espinas dendríticas comienzan a aparecer. En (b) se muestra el segmento intermedio de una dendrita, en la cual la densidad de espinas es mucho mayor que al inicio del tronco dendrítico. En (c) la densidad de las espinas dendríticas comienza a decaer en el segmento final de la dendrita, haciéndose más escasas, sin embargo, estas no desaparecen completamente como al inicio de los troncos dendríticos. Barra de escala 20 μ m.

Morfología de las espinas dendríticas

Las espinas dendríticas de las NEM's de tortuga presentaron todo tipo de morfologías: cabezas grandes o pequeñas con cuellos largos y muy delgados o cortos y gruesos, cuellos largos y gruesos e incluso espinas con cabezas muy grandes en las cuales no se observaba un cuello definido. Para el presente trabajo se agruparon las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga en cinco categorías de acuerdo a su morfología.

- **Espinas dendríticas cortas:** Este tipo de espinas se caracteriza por presentar cabezas muy grandes o muy pequeñas, en estas espinas no se observa un cuello como tal, ya que la cabeza de la espina se encuentra directamente conectada hacia el tronco dendrítico (Fig. 22). Generalmente este tipo de espinas se localizan en las partes proximales de la dendrita con respecto al soma.

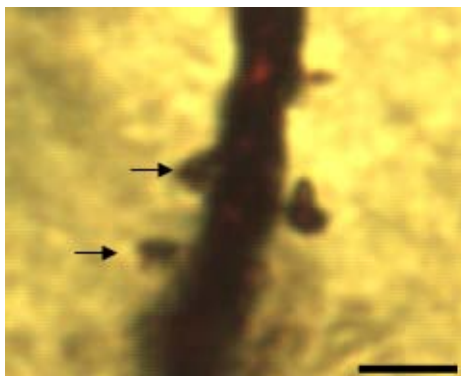


Figura 22. Espinas dendríticas cortas: Fotografía de un segmento de una dendrita de NEM en la cual se pueden apreciar dos espinas dendríticas cortas (flechas negras); a pesar de no mostrar un cuello como tal, la cabeza de este tipo de espinas puede presentar varias formas desde cabezas grandes o pequeñas, hasta redondas, ovaladas o un poco alargadas. Barra se escala 5 μm .

- **Espinas dendríticas delgadas:** Las espinas con este tipo de morfología muestran cabezas grandes o pequeñas conectadas al tronco dendrítico por medio de un cuello, el cual puede ser largo muy delgado, largo y grueso, corto muy delgado o corto y grueso (Fig. 23).
-

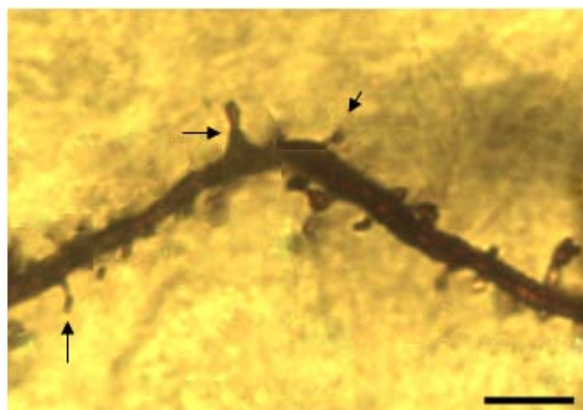


Figura 23. Espinas dendríticas delgadas: Reconstrucción fotográfica de un segmento de una dendrita de NEM de tortuga, en la cual se puede notar como las espinas delgadas (flechas negras) pueden presentar diferencias en cuanto a su morfología, presentándose espinas delgadas con cabezas grandes o pequeñas y cuellos delgados o gruesos, largos o cortos. Barra de escala 5 μm .

- **Espinas dendríticas dobles o bifurcadas:** Estas espinas presentan cuellos delgados y largos, sin embargo, en algunas ocasiones se observan espinas con cuellos delgados muy cortos; se notó que el cuello de estas espinas tienen una bifurcación a partir de la cual da origen a dos espinas cada una con una cabeza, aunque las cabezas pueden presentar distintas dimensiones, es decir, que a partir de un solo cuello conectado hacia el tronco dendrítico, este da origen a dos espinas dendríticas con morfologías distintas una de la otra (Fig. 24).

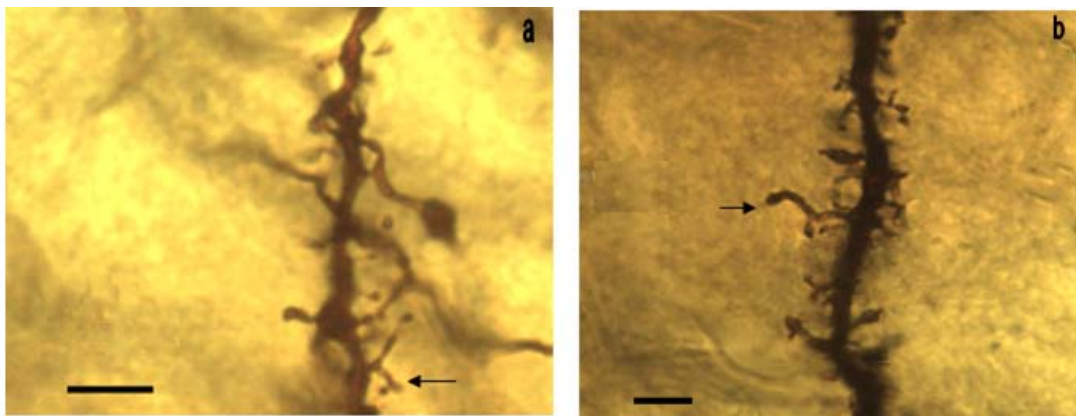


Figura 24. Espinas dendríticas dobles: Reconstrucción fotográfica de un segmento de dos dendritas de NEM de tortuga, en las cuales se muestra la presencia de espinas dobles o bifurcadas, (Figuras (A) y (B), flechas negras), nótese como a pesar de surgir de una espina en común las dos espinas que se originan, presentan morfologías diferentes tanto en el cuello como en la cabeza de cada espina dendrítica. Barra de escala 5 μ m.

- **Espinas dendríticas fungiformes:** generalmente las espinas dendríticas con este tipo de morfología, se caracterizan por presentar una cabeza por lo regular grande, la cual parece tener la parte superior de la cabeza plana; sin embargo, el cuello de este tipo de espinas puede ser largo o corto, la mayoría de las veces delgados, muy pocos casos es donde se observa este tipo de espinas con cuellos gruesos (Fig. 25).

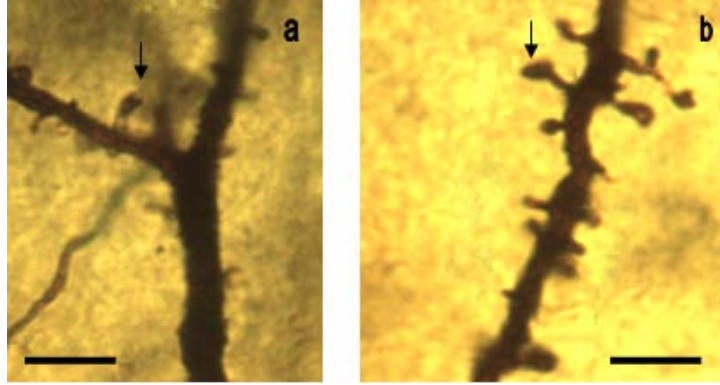


Figura 25. Espinas dendríticas fungiformes: Reconstrucción fotográfica de un segmento de dos dendritas de NEM's de tortuga donde se muestran espinas fungiformes (flechas negras), se puede observar que la cabeza de este tipo de espinas no es completamente redonda, sino que la parte superior de la cabeza se encuentra totalmente plana, mientras que los cuellos son delgados. Barra de escala 5 μ m.

- **Espinas dendríticas en forma de bastón:** este tipo de espinas, presentaron una morfología muy peculiar, ya que una vez que el cuello de la espina surgía del tronco dendrítico, este se curvaba ligeramente, para dar origen a la cabeza de la espina, quedando esta hacia un costado, semejando la forma de un bastón (Fig. 26).

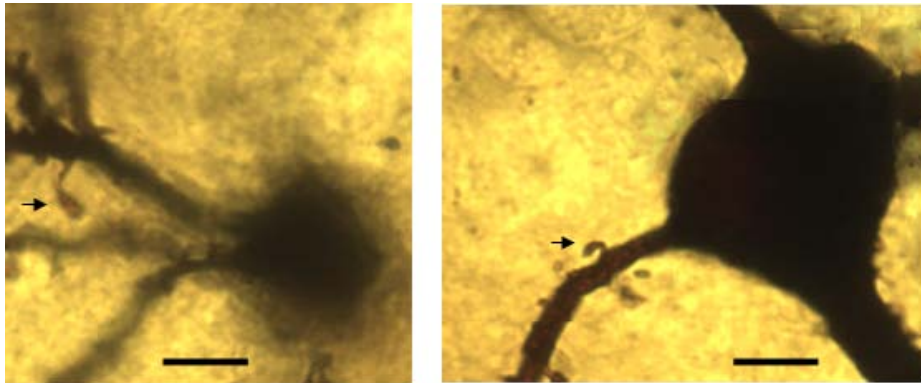


Figura 26. Espinas dendríticas en forma de bastón: microfotografías de dos dendritas de distintas neuronas espinosas medianas de tortuga, se observa dos espinas con este tipo de morfología, nótese que dichas espinas presentan una curvatura en el cuello, para después dar origen a la cabeza de la espina. Barra de escala 5 μ m.

- **Longitud de las espinas dendríticas**

Las espinas dendríticas de las NEM's, presentan longitudes diversas sin importar el tipo de morfologías que éstas muestren, ni la posición en la que se encuentren. En algunas ocasiones se observaron espinas dendríticas de más de 2 μm de longitud, llegando a encontrar espinas de hasta 8 μm (Fig. 27).

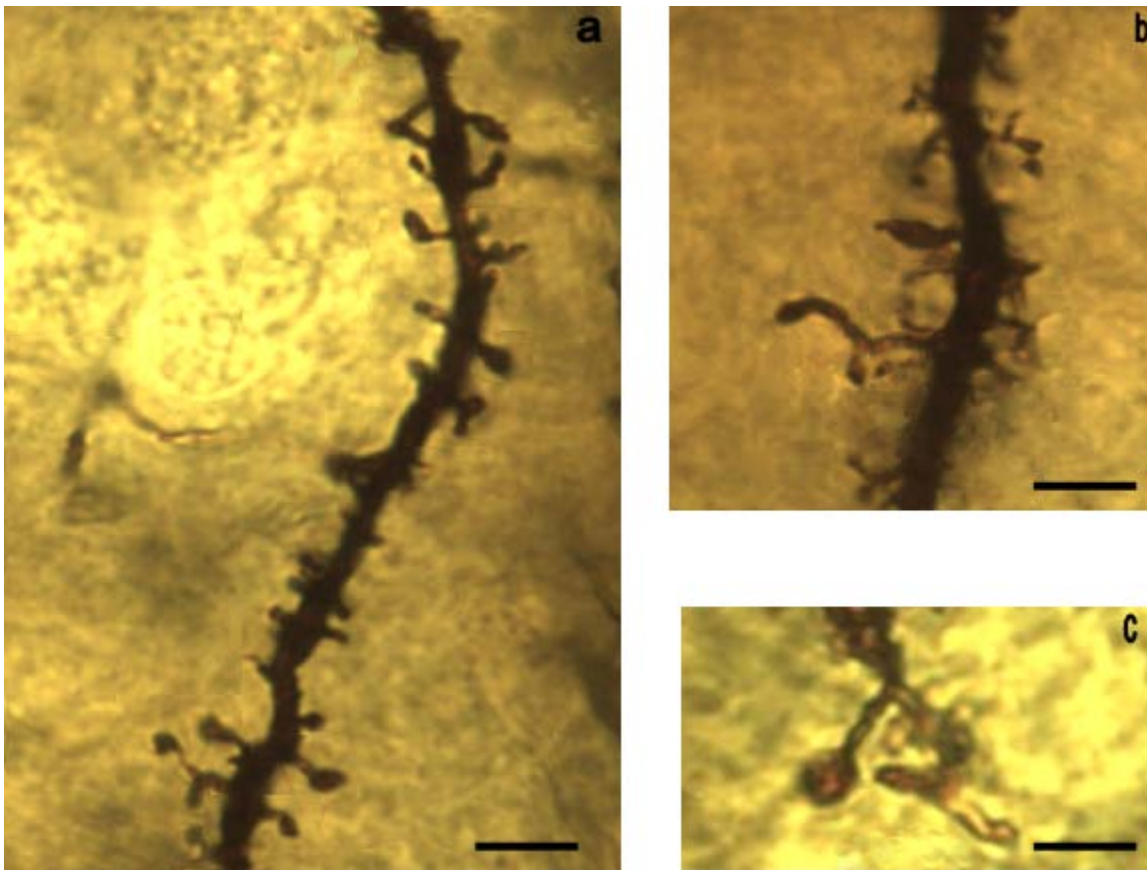


Figura 27. Longitud de las espinas: Reconstrucciones fotográficas de un segmento de tres dendritas diferentes, en donde se observan los diversos tamaños que pueden llegar a presentar las espinas dendríticas, sin importar la posición, la morfología que presenten y la distancia donde se encuentran las espinas dendríticas Figuras (a) y (b). En la figura (c) se muestra un acercamiento de dos espinas dendríticas (100 X) donde se puede observar en efecto el tamaño y la variedad de formas que presentan las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas de la tortuga. Barra de escala 5 μm .

Tomando en cuenta la morfología de las espinas, se obtuvieron los siguientes parámetros mostrados en la tabla 2 con respecto a su longitud.

Tabla 2: Media de las longitudes que se observaron para cada tipo de espina de las NEM's de tortuga de acuerdo a la morfología en las cuales se clasificaron.

Parámetros	Espinas delgadas	Espinas fungiformes	Espinas cortas	Espinas dobles	Espinas en bastón
Longitud	2.16 ± 0.11	2.58 ± 0.09	1.29 ± 0.09	2.68 ± 0.32	2.57 ± 0.28

- **Densidad de las espinas dendríticas**

De acuerdo a los cinco tipos de morfologías dentro de las cuales se clasificaron a las espinas dendríticas de las NEM's de tortuga, se realizó una proporción en porcentajes para determinar el tipo de morfología más común en las espinas dendríticas (Fig. 28); en este caso, las espinas más abundantes son las espinas delgadas con un 33% del total de las espinas contabilizadas, seguidas de las espinas fungiformes con un 28%, las espinas cortas y dobles con un 21% y 11% respectivamente, finalmente las espinas con forma de bastón representaron el 7% del total.

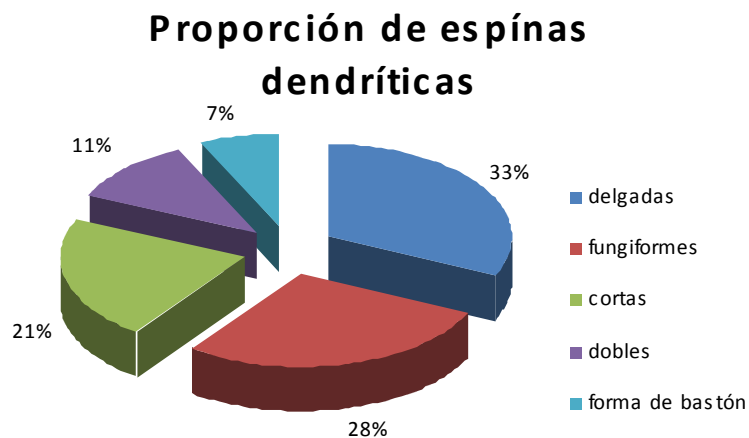


Figura 28. Proporción de espinas dendríticas: Porcentaje correspondiente en cuanto a la proporción de cada tipo de morfología. Las espinas delgadas fueron las más abundantes seguidas de las espinas fungiformes, mientras que las menos abundantes fueron las espinas en forma de bastón.

De acuerdo a lo observado en las dendritas de las NEM's de tortuga, el inicio de las dendritas primarias de estas neuronas, se caracterizan por presentar muy pocas espinas encontrando 1.56 ± 0.27 espinas/ $10 \mu\text{m}$, aunque en algunas ocasiones no se presentan espinas dendríticas conforme surge la primer bifurcación en las dendritas primarias, la densidad de espinas incrementa, llegándose a observar 5.67 ± 0.15 espinas por cada $10 \mu\text{m}$ en promedio, mientras las dendritas se alejan más del soma, la densidad de las espinas aumenta. En el caso de las dendritas que no presentaron bifurcaciones, la aparición de las espinas es similar con respecto a las demás dendritas. Sin embargo, en la porción final tanto en las dendritas con bifurcaciones y sin bifurcaciones, la densidad de las espinas decae, siendo menor con respecto a la parte media de la dendrita, aunque no tan escasas como en el segmento inicial dendrita primaria (Fig.29).

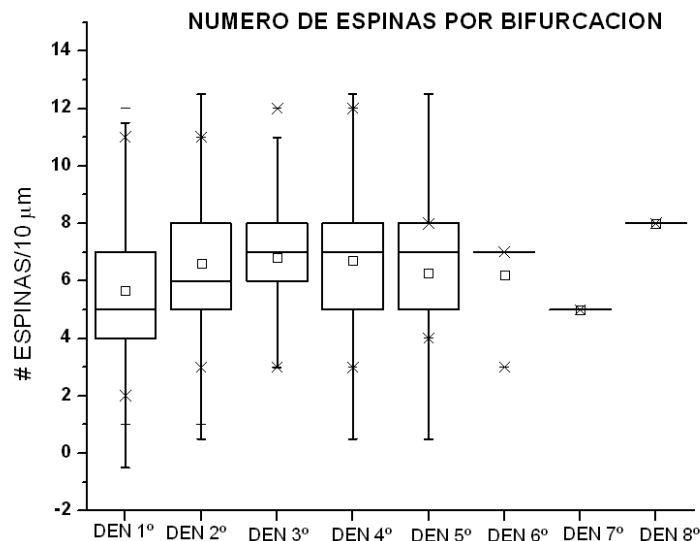


Figura 29. Gráfica de caja que muestra el número de espinas dendríticas por dendrita: se observa la cantidad de espinas que se encuentran por cada bifurcación, (se tomó como referencia $10 \mu\text{m}$ por cada bifurcación los cuales fueron utilizados como referencia para contar el número de espinas dendríticas presentes). Nótese como al densidad de espinas al inicio del tronco dendrítico es menor, mientras que a partir de la primera bifurcación la densidad de espinas comienza a incrementar llegando a presentarse una densidad media de 6.37 espinas/ $10 \mu\text{m}$. Llegando a la parte final de la dendrita, la densidad de espinas comienza a decaer.

Discusión

Con respecto a los resultados obtenidos durante las observaciones realizadas en las NEM's de tortuga, éstas se caracterizaron por ser las neuronas más abundantes dentro del estriado de la tortuga. Sin embargo, se lograron encontrar ciertas diferencias morfológicas, como el número, densidad y longitud de espinas dendríticas, longitud total y diámetro de las dendritas, diámetro del soma (algunas estadísticamente no significativas), al ser comparadas con las características reportadas para mamíferos (humano, mono, rata, ratón y gato).

El Soma

De acuerdo a las dimensiones y las formas que presentaron los somas de las NEM's de tortuga, estas fueron muy similares con respecto a las neuronas de mamíferos, siguiendo las clasificaciones realizadas por otros autores, las neuronas de tortuga podrían ser comparadas con las neuronas espinosas medianas tipo I de ratón [Iwahori y Kiyota, 1987], las neuronas espinosas tipo II de mono [Difiglia et al, 1976], neuronas espinosas tipo I de humano (neuronas medianas con dendritas altamente espinosas) [Braak y Braak, 1982; Graveland et al, 1985], neuronas medianas tipo I de rata [Dimova et al, 1980; Chang et al, 1982], neuronas espinosas medianas en gato [Kemp y Powell, 1971].

Dendritas

Las dendritas primarias de las NEM's de tortuga, como ya se ha mencionado, pueden surgir aleatoriamente del soma, a partir de cual se originan tres dendritas primarias en promedio; sin embargo, en las neuronas espinosas medianas de mamíferos, el número de dendritas primarias que presentan puede ser muy variable [Kemp y Powell, 1971; Difiglia et al, 1976; Dimova et al, 1980; Chang et al, 1982; Braak

y Braak, 1982; Graveland et al, 1985; Iwahori y Kiyota, 1987]. En el caso de las neuronas espinosas de humano, estas pueden presentar hasta 10 dendritas primarias [Braak y Braak, 1982; Graveland et al, 1985].

Las dendritas primarias de las NEM's de tortuga, al igual que en mamíferos [Wilson, 2004; Kita y Kitai, 1994; Kemp y Powell, 1971; Chang et al, 1982; Iwahori y Kiyota, 1987; Levine et al. 1986; Graveland y Di figlia, 1985], presentan dendritas secundarias y terciarias, aunque en ciertas ocasiones pueden tener dendritas sin bifurcaciones, la extensión de estas dendritas, es muy similar a lo reportado en mamíferos.

Nuestros resultados mostraron que la extensión de los árboles dendríticos de las NEM's de tortuga tienden a ser más grandes a lo reportado para mamíferos [Fiala y Harris, 2008], por lo cual, podría pensarse que probablemente estas neuronas se encuentren más separadas entre sí que en mamíferos. Por lo tanto es posible que esta mayor extensión del árbol dendrítico que presentan las NEM's de tortuga, sea necesaria para establecer y asegurar los contactos sinápticos necesarios con neuronas vecinas.

En el caso de las neuronas de tortuga como ya se ha mencionado, la aparición de las espinas dendríticas regularmente se da antes de que se origine la primera bifurcación, comúnmente antes de los primeros 20 μm . En algunas ocasiones, las espinas dendríticas comienzan a aparecer en los primeros micrómetros de la dendrita primaria, sin embargo, en NEM's de mamífero la distancia que hay entre el soma y la aparición de las primeras espinas dendríticas es generalmente de 25 μm en el humano; 22 μm en el mono; de 20 a 25 μm en la rata y de 20 μm en el gato [Kemp y Powell, 1971; Chang et al, 1952; Braak y Braak, 1982; Graveland et al, 1985; Iwahori y Kiyota, 1987; Yenlink et al, 1991; Walter et al, 1993].

El Axón

Los axones de las NEM's de mamífero principalmente tienen su origen en el soma; en algunas ocasiones el axón puede surgir en la primera porción de la dendrita primaria. En las NEM's de tortuga, el cono axónico presenta su punto de origen en el soma, seguido de la primera porción de la dendrita primaria, aunque también fue muy común observar que el cono axónico surgiera cercano a alguna dendrita primaria, tomando en cuenta lo que ya se ha reportado en mamíferos, en el humano los axones de las neuronas espinosas medianas pueden tener el mismo origen [Kemp y Powell, 1971; Difiglia et al, 1976; Dimova et al, 1980; Chang et al, 1982; Braak y Braak, 1982; Graveland et al, 1985; Iwahori y Kiyota 1987; Yenlink et al, 1991; Walker et al, 1993].

Las Espinas dendríticas

La principal característica de las neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga como su nombre lo dice, es la presencia de espinas y la cantidad que pueden llegar a tener de estas estructuras. Como se menciona anteriormente, las espinas dendríticas de las neuronas espinosas pueden presentar cuatro tipos de morfologías, siendo estas: a) delgadas; b) fungiformes; c) sésiles; d) filopodios (aunque este último tipo de espinas dendríticas no fue observado en las neuronas espinosas medianas de la tortuga). [Jones y Powell 1969; Wilson et al, 1983; Koch y Zador, 1993; Harris y Kater, 1994; Sorra y Harris, 2000; Hering y Sheng, 2001; Portera-Calliau y Yuste, 2001; Nimchinsky et al. 2002; Lippman y Dunaevsky, 2004; Yuste y Bonhoeffer, 2004; Fiala y Harris, 2008]. Algunos autores han reportado que las principales espinas presentes en el neostriado de rata y de mono son las espinas: a) delgadas; b) fungiformes y c) cortas [Difiglia et al, 1976; Difiglia et al, 1982; Wilson et al, 1983]; sin embargo, también se ha

encontrado que en el neostriado de rata existen espinas dendríticas bifurcadas [Fiala y harris, 2008; Comery et al, 1996; Chicurel y Harris, 1992].

Las espinas dendríticas presentes en NEM's de tortuga, se caracterizan por presentar morfologías variadas las cuales pueden ser comparadas con lo que ya se ha reportado. Estas espinas dendríticas fueron clasificadas en cinco grupos dependiendo el tipo de formas que estas presentaran, siendo estas: a) delgadas; b) fungiformes; c) cortas; d) bifurcadas y e) forma de bastón, este último grupo hasta el momento no ha sido reportado en el estriado de otros mamíferos por lo cual podría ser considerado como un tipo de morfología característica de las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas del grupo taxonómico de las tortugas (Testudinae).

Algunos autores dividen a las espinas dendríticas en dos grupos, tomando en cuenta la madurez que presentan, por lo que se habla de espinas maduras, las cuales se caracterizan por presentar cabezas bulbosas que forman parte de sinapsis excitatorias, dentro de esta categoría se consideran como espinas maduras a las espinas delgadas y las espinas fungiformes, las cuales son mucho más abundantes dentro del sistema nervioso [Harris, 1999; Bourne y Harris, 2007], tomando en cuenta los resultados obtenidos, se observó que precisamente estos dos tipos de espinas dendríticas también presentes en las neuronas espinosas medianas de tortuga fueron las espinas más abundantes. El siguiente grupo se considera a las espinas como espinas inmaduras a las espinas cortas, espinas ramificadas [Harris, 1999; Bourne y Harris, 2007], estas espinas se encontraron en menor proporción concordando con lo que se ha reportado. Tomando en cuenta el último grupo de espinas que fue encontrado en las neuronas espinosas medianas de tortuga, las espinas dendríticas con forma de bastón presentan características similares a las espinas maduras ya que

se ha observado que estas también presentan cabezas bulbosas al igual que este grupo, sin embargo, sería necesario la realización de estudios posteriores.

La longitud que pueden llegar a presentar las espinas dendríticas oscila de los 0.5 a 2 μm [Jones y Powell 1969; Wilson et al, 1983; Koch y Zador, 1993; Harris y Kater, 1994; Sorra y Harris, 2000; Hering y Sheng, 2001; Portera-Calliau y Yuste, 2001; Nimchinsky et al. 2002; Lippman y Dunaevsky, 2004; Yuste y Bonhoeffer, 2004; Fiala y Harris, 2008]; pero en el caso de las espinas dendríticas de tortuga, fue posible encontrar espinas de hasta 8 μm de longitud, sin importar el tipo de morfología que presentaran, aunque la mayoría de las espinas dendríticas tenían longitudes de 2.60 μm aproximadamente.

Al observar las NEM's de tortuga, parecen tener muy pocas espinas dendríticas, sin embargo, la densidad media de espinas encontradas es de 6.37 espinas/10 μm , mientras que la densidad máxima que observamos fue de 6.75 espinas/10 μm , comparado con la densidad de espinas dendríticas en mamífero, la densidad de espinas es menor ya que en el caso del humano su densidad media de espinas dendríticas es de 7.2 espinas/10 μm [Braak y Braak, 1982; Graveland et al, 1985]; en el mono 15 espinas/10 μm [Difiglia et al, 1976]; en el gato 26 espinas/20 μm [Kemp y Powell, 1971]. Visiblemente la densidad media de espinas dendríticas es casi similar a lo que se ha reportado en humano, pero a diferencia de la densidad media de espinas en el mono y en el gato, esta es poco más del doble de lo que se presentan en las neuronas de tortuga.

Como bien se sabe, las neuronas espinosas medianas son las principales neuronas de proyección dentro del estriado, ya que constituyen el 95% de las neuronas presentes dentro de este [Reiner, 1998; Bolam et al, 2000; Wilson, 2004]. Sin embargo,

una parte importante de la superficie de estas neuronas son las espinas dendríticas. La densidad y la longitud de las espinas dendríticas fueron los puntos más variables en cuanto a la anatomía de estas estructuras. Como se ha dicho, en términos generales las espinas dendríticas de la tortuga presentaron dimensiones similares a lo que se ha reportado para mamíferos, sin embargo, en algunos casos la longitud de las espinas dendríticas rebasó lo establecido para mamíferos. Una explicación a este fenómeno, puede ser que la distancia existente entre las neuronas presentes en el estriado sea mayor en la tortuga que en los mamíferos, o bien que la matriz extracelular sea diferente en estos reptiles, para asegurar el establecimiento de sinapsis lo más eficientes posibles.

Las tortugas que se utilizaron en este estudio, se caracterizan por ser animales semi acuáticos, por lo tanto son organismos adaptados a resistir ciertos periodos bajo condiciones de anoxia [Pérez-Pinzon et al, 1992; Lutz et al, 1996; Lutz y Milton, 2004] ; esto podría también estar relacionado con las características reportadas en este estudio para las neuronas espinosas medianas. Ya que bajo tales condiciones, la población de neuronas tendería a ser menor, por consiguiente las neuronas tendrían que extenderse más; la densidad de espinas también sería menor y por tanto cierto porcentaje de estas también serían más grandes con respecto a las demás; posiblemente, las neuronas presentarían estas características, ya que al recibir menos oxígeno en condiciones de anoxia, sería más conveniente para el organismo tener una “proporción menor” de neuronas con pocas espinas pero mucho más largas, ya que así sería garantizado tener estables estas estructuras para que mantengan un buen funcionamiento sin que esto llegue a provocar daños severos al circuito cerebral de dichos organismos; es decir, que mientras menor sea el número de neuronas que se presenten se garantiza el buen

funcionamiento de este sistema. Es posible que en otros reptiles (P. Ej. terrestres: Lacertilios, ofidios etc.) se obtengan resultados diferentes por la poca resistencia que éstos tengan a la anoxia.

Otro punto importante sería que al tratarse a las tortugas como organismos evolutivamente inferiores a los mamíferos, la complejidad que presenta el estriado de la tortuga sería mucho menor que en mamíferos, ya que al presentar una corteza de tres capas (en comparación con la de los mamíferos de seis capas), hay una menor entrada cortical al estriado, por lo que las tortugas presentan un menor repertorio de movimientos estereotipados a partir del cual el organismo pueda ser capaz de llevar a cabo un movimientos de forma eficiente (Butler y Hodos, 2005).

Conclusión

De acuerdo a los resultados que se obtuvieron durante este estudio, podemos concluir que:

- Las neuronas espinosas medianas del estriado de tortuga, presentan algunas características similares a lo ya reportado para mamíferos.
- Se observó una tendencia en la extensión del árbol dendrítico que presentan las neuronas espinosas medianas dentro del estriado de tortuga siendo ligeramente ser mayor a lo reportado en mamíferos.
- Las neuronas espinosas medianas de tortuga, presentan una menor densidad de espinas dendríticas, sin embargo, estas tienden a ser más largas a comparación de las espinas dendríticas en las mismas neuronas de mamíferos.
- Las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga se clasifican dentro de cinco grupos: Fungiforme, corta, delgada, bifurcada y con forma de bastón. Siendo éste último diferente a lo reportado para mamíferos, por lo que podría tratarse de un tipo de espina hasta el momento característica de estos organismos

Referencias

1. Aboitz, F., Montiel J. (2007). Origin and Evolution of the vertebrate Telencephalon, with special reference to the mammalian Neocortex. Ed. Springer. Berlin. 28-29 pp.
2. Alexander, G. E. y Crutcher, M. D. (1990). Functional architecture of Basal Ganglia circuits: neuronal substrates of parallel processing. *TINS* 13 (7) , 266-271.
3. Ávila-costa, M. R. L. (2001). Efecto de la taurina en el sistema nervioso de la rata expuesta a un modelo de estrés oxidativo producido por ozono: análisis morfológico-bioquímico y su relación con la conducta. Tesis que para obtener el grado académico de Doctor en Ciencias Biología. Facultad de ciencias. México D. F.
4. Barral, J. (2001) Modulación presináptica de las aferentes excitatorias glutamatérgicas al neocórtex de la rata. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias UNAM.
5. Braak, H. and Braak, E. (1982). Neuronal types in the striatum of man. *Cell TISSUE RES* 227: 319-342.
6. Bishop, G.A., Chang, H.T and Kitai, S.T. (1982). Morphological and physiological properties of neostriatal neurons: An intracellular horseradish peroxidase study in the rat. *J.NEUROSCI* 7:179-180.
7. Bolam, J.P., Ingham, C.A. and Smith, A.D. (1984). The Section-Golgi-Impregnation Procedure-3. Combination of Golgi-Impregnation with Enzyme Histochemistry and electron Microscopy To Characterize Acetylcholinesterase-containing Neurons in the Rat Neostriatum. *NEUROSCI.* 12 (3).687-709.
8. Bolam, J. P., Hanley, J. J., Booth, P. A. C. and Bevan, M. D. (2000). Synaptic organization of the basal ganglia. *J. ANAT.* 196: 527-542.
9. Bourne, J. and Harris K. M. (2007). Do thin spines learn to be mushroom spines that remember?. *CURRENT OPINION IN NEUROBIOLOGY* 17: 381-386.
10. Butler, A. B. and Hodos, W. (2005). Comparative vertebrate neuroanatomy. Ed. Wiley-interscience. 715p.
11. Carlisle, H. J y Kennedy, M. B. (2005). Spine architecture and synaptic plasticity. *TRENDS NEUROSCI* 28 (4) 182-187.
12. Carpenter, M. B. (1981) Anatomy of the corpus striatum and brain stem integrating systems. En Brooks V. (ed) handbook of physiology: the nervous system, motor control. American Physiological Society, Bethesda, MD.

13. Chang, H. T. (1952). Cortical neurons with particular reference to the apical dendrites. Cold Spring Harbor *SYMP. QUANT. BIOL.* 17: 189-202.
14. Chang, H.T and Kitai, S.T. (1982). Large Neostriatal Neurons in the Rat: An Electron Microscopic Study of Gold-Toned Golgi-Stained Cells. *Brain Res. Bull.* 8: 631-633.
15. Chang, H. T., Wilson. C. J. and Kitai, S. T. (1982). A Golgi study of rat neostriatal neurons: Light microscopio análisis. *THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY* 208: 107-126.
16. Chicurel M. E. and Harris K. M. (1992). Three-dimensional analysis of the structure and composition of CA3 branched spines and their synaptic relationships with mossy fiber boutons in the rat Hippocampus. *JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY* 325: 169-182.
17. Comery, T. A., C. X. Stamoudis, S. A. Irwin, and W. T Greenough. (1996) Increased density of multiple-head dendritic spines of medium-sized spiny neurons of the striatum in rats reared in a complex environment. *NEUROBIOLOGY OF LEARNING AND MEMORY* 66: 93-96.
18. DiFiglia M., P. Pasik and T. Pasik. (1976). A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *BRAIN RES.* 114: 245-256.
19. DiFiglia M., P. Pasik and T. Pasik. (1982). A Golgi and ultrastructural study of the monkey Globus pallidus. *THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY* 212: 53-75.
20. Dimova, R., Vuillet, J. and Seite, R. (1980). Study of the rat neostriatum using a combined Golgi electron microscope technique and serial sections. *NEUROSCI* 5 pp 1581.
21. Dunaevsky, A., Tashiro, A., Majewska, A., Masson, C. and Yuste, R. (1999). Developmental regulation of spine motility in the mammalian central nervous system. 96: 13438-13443
22. Ethell, I. M. and Pasquale, E. B. (2005). Molecular mechanisms of dendritic spine development and remodeling. *PROGRESS IN NEUROBIOLOGY* 75:161-205.
23. Fiala, J. C., Feinberg, M., Popov, V. and Harris, K. M. (1998). Synaptogenesis via dendritic filopodia developing hippocampal area CA 1. *J NEUROSCI* 18:8900-8911.
24. Fiala, J. C. and Harris M. H. (2008). Dendrite structure. En: Stuart G., Spruston N., Häusser M. *Dendrites*. 2^o edición. Ed. Oxford University press. 1-34pp.

25. Fiala, J. C., Spacek, J. and Harris, K. M. (2002). Dendritic spine pathology: cause or consequence of Neurological disorders?. *BRAIN RESEARCH REVIEWS* 39: 29-54.
26. Fisher, M., S. Kaech, D. Knutti and A. Matus. (1998). Rapid actin-based plasticity in dendritic spines. *NEURON*, 20: 847–854.
27. Globus, A. and Scheibel, A. B. (1967). The effect of visual deprivation on cortical neurons: a Golgi study. *EXP. NEUROL.* 19: 331-345.
28. Graveland, G. A and Di figlia, M. (1985). The frequency and distribution of medium-sized neurons with indented nuclei in the primate and rodent neostriatum. *BRAIN RESEARCH*, 327: 307-311.
29. Graveland, G. A., Williams R. S and Di fliglia, M. (1985). A golgi study of the human neostriatum: Neurons and afferent fibers. *THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY* 234: 317-333.
30. Gray, E. G. (1959). Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: an electron microscope study. *J. ANAT.* 93: 423-433.
31. Graybiel, AM, Ragsdale, CW, Yoneoka, ES and Elde, RP. (1981). An immunohistochemical study of enkephalins and others neuropeptides in the striatum of the cat with evidence that the opiate peptides are arranged to form mosaic patterns in register with the striosomal compartments visible by acetylcholinesterase staining. *NEUROSCI* 6:377-397.
32. Garcia-Lopez, P., Garcia-Marin, V. and Freire, M. (2007). The discovery of the dendritic spines by Cajal in 1888 and its relevance in the present neuroscience. *PROGRESS IN NEUROBIOLOGY* 83: 110-130.
33. Grutzendler, J., Katshuri, N. and Wen-Biao, G. (2002). Long-term dendritic spine stability in the adult cortex. *NATURE.* 40: 812-816.
34. Harris, K. M. (1999). Structure, development and plasticity of dendritic spines. *CURR OPIN NEUROBIOL* 9:343-348.
35. Harris, K. M. and Kater, S. B. (1994). Dendritic spines: cellular specializations imparting both stability and flexibility to synaptic function. *ANNU. REV. NEUROSCI.* 17: 341-371.
36. Harris, K. M. and Stevens, J. K. (1998). Dendritic spines of rat cerebellar Purkinje cells: serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. *J NEUROSCI* 8(12) 4455-4469.

37. Harris, K. M. and Stevens, J. K. (1989). Dendritic spines of CA1 in the pyramidal cells in the rat hippocampus: serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. *J NEUROSCI* 9 (8): 2982-2997.
38. Hayashi, Y. and Majewska, A. (2005) dendritic spine geometry: functional implication and regulation. *NEURON*. 46: 529-532
39. Hering H. and Sheng M. (2001). Dendritic spines: dynamics and regulation. *MACMILLAN MAGAZINES LTD*. 2: 880-888.
40. Horwitz, B. (1981). Neuronal plasticity: how changes in dendritic architecture can affect the spread of postsynaptic potentials. *BRAIN RESEARCH* 224: 412-418.
41. Hutchinson, A. 1992. A Reproducing Population of *Trachemys scripta elegans* In Southern Pinellas County, Florida. *HERPETOLOGICAL REVIEWS* 23(3):74-75.
42. Ingham, C. A., Hood, C. H. and Arbuthnott, G. W. (1989). Spine density on neostriatal neurons change with 6-hydroxydopamine lesions and with age. *BRAIN RES*. 503: 334-338.
43. Iwahori, N. and Kiyota. (1987). A Golgi study on the neuronal organization of the neostriatum in the mouse. *NEUROSCIENCE RESEARCH* 4: 454-474.
44. Kasai, H., Matsuzaki, M., Noguchi, J., Yasumatsu, N. and Nakahara, H. (2003). Structure-stability-function relationships of dendritic spines. *TRENDS IN NEUROSCIENCE*. 26 (7): 360-368.
45. Kemp, J. M. and T. P. S. Powell. (1971). The structure of the caudate nucleus of the cat: light and electron microscopy. *PHIL. TRANS. R. SOC. LOND*. B262, 383-401.
46. Kita, S. H and Kitai, S. T. (1994) The morphology of globus pallidus projection neurons in the rat: an intracellular staining study. *BRAIN RESEARCH* 636: 308-319.
47. Koch C., A. Zador. (1993) The function of dendritic spines: Devices subserving biochemical rather than electrical compartmentalization. *J NEUROSCI*. 13(2): 413-402.
48. Jones, E. G. and Powell T. P. S. (1969). Morphological variations in the dendritic spines of the neocortex. *J. CELL SCI*. 5: 509-529.
49. Levine, M. S., Adinolfi, A. M., Fisher, R. S., Hull C. D., Buchwald, N. A. and McAllister, J. P. (1986). Quantitative morphology of medium-sized spiny neurons in aged cats. *NEUROBIOLOGY OF AGING*. 7: 227-286.

50. Lippman, J. and Dunaevsky, A. (2004). Dendritic spine morphogenesis and plasticity. *WILEY INTERSCIENCE* 47-57.
51. Lutz, P. L., Nilsson, G. E. and Perez-Pinzon, M. A. (1996). Anoxia tolerant animals from a neurobiological perspective. *COMP. BIOCHEM. PHYSIOL.* 113B (1): 3-13.
52. Lutz, P. L. and Milton S. L. (2004). Negotiating brain anoxia survival in the turtle. *J. OF EXPERIMENTAL BIOLOGY* 207: 3141-31-47.
53. Marin, O., J. A. J W. Smeets, and A. González. (1998). Evolution of the basal ganglia in tetrapods: a new perspective based on recent studies in amphibians. *TRENDS NEUROSCI.* 21: 487-494.
54. Matus, A. (2005). Growth dendritic spines: a continuing history. *CURRENT OPINION IN NEUROBIOLOGY* 15: 67-72.
55. Medina, L., and A. Reiner. (1995). Neurotransmitter organization and connectivity of the basal ganglia in vertebrates: implications for the evolution of basal ganglia. *BRAIN BEHAV EVOL* 46:235-258.
56. Nimchinsky, E. A., Sabatini, B. L. and Svoboda, k. (2002). Structure and function of dendritic spines. *ANNU. REV. PHYSIOL.* 65: 313-53.
57. Parent, A., Sato, F., Wu Y., Gauthier, J., Lévesque, M., and Parent, M. (2000). Organization of the basal ganglia: the importance of the axonal collaterization. *TRENDS NEUROSCI.* 23 (suppl.), S20-27.
58. Perez-Pinzon, M. A., Rosenthal, M., Sick T. J., Lutz, P. L., Pablo, J. and Mash, D. (1992). Downregulation of sodium channels during anoxia: a putative survival strategy of turtle brain. *AM J PHYSIOL REGULATORY INTEGRATIVE COMP PHYSIOL.* 262: 712-715.
59. Portera-Cailliau, C. and R. Yuste. (2001) Sobre la función de los filopodios dendríticos. *REV NEUROL.* 33 (12): 1158-1166.
60. Proaño, N. J., y Aguilar R. F. (2004). Enfermedad de Alzheimer: Clínica diagnóstico y neuropatología. *PLAST & REST NEUROL* 3(1 y 2): 95-105.
61. Powers, AS, Reiner, A. (1980). A stereotaxic atlas of the forebrain and midbrain of the eastern painted turtle (*Chrysemys picta picta*). *JOURNAL FÜR HIRNFORSCHUNG.* 21:125-59.
62. Reiner, A., L. Medina, and V. C. Leo. (1998). Structural and Fuctional evolution of the Basal Ganglia in vertebrates. *BRAIN RESEARCH REVIEWS* 28: 235-258.

63. Shepherd, G. M. (1996). The dendritic spine: a multifunctional integrative unit. *JOURNAL OF NEUROPHYSIOLOGY* 75 (6): 2197-2210.
64. Shepherd, G. M. the *Synaptic Organization of the Brain*. 5^o edición. Ed. Oxford University Press.
65. Schiller, J., Schiller, Y. and Clapham D. E. (1998). NMDA receptors amplify calcium influx into dendritic spines during associative pre- and postsynaptic activation. *NAT. NEUROSCI* 1: 114-118.
66. Smeets, W. and González. (2000). A Catecholamine system in the brain of vertebrates: New perspectives through a comparative approach. *BRAIN RES REV* 33:308-379.
67. Smith, Y, Devan, MD, Shink, E, and Bolam JP. (1998). Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *NEUROSCI*. 86:353-387.
68. Sorra, K. E. and Harris, K. M. (2000). Overview on the structure, composition, function, development and plasticity of hippocampal dendritic spines. *HIPPOCAMPUS* 10: 501-511.
69. Valverde F. (1967). Dendritic spines of the visual cortex and light deprivation in the mouse. *EXP. BRAIN. Res.* 3: 337-352.
70. Valverde, F. (2002). Estructura de la corteza cerebral. Organización intrínseca y análisis comparativo del neocortez. *REV NEUROL.*; 34 (8): 758-780.
71. Walter, R. H., Arbuthnot, G. W., Boughman, R. W. and Graybiel, A. M. (1993). Dendritic domains of medium spiny neurons in the primate striatum: Relationships to striosomal borders. *THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY* 337: 614-628.
72. Wilhelmus, J. A. J., Marín, O. and González, A. (2000). Evolution of the basal Ganglia: new perspectives through a comparative approach. *J. ANAT.* 196: 501-508.
73. Wilson, C. J. (2004). Basal Ganglia. En: Shepherd, G. M. the *Synaptic Organization of the Brain*. 5^o edición. Ed. Oxford University Press. 361-413pp.
74. Wilson, C. J., P. M. Groves, S. T. Kitai, and J. C. Linder. (1983). Three-dimensional structure of dendritic spines in the rat neostriatum. *THE JOURNAL OF NEUROSCIENCE* 3 (2): 383-398.
75. Yenlink, J., François, C., Percheron, G. and Tandé, D. (1991). Morphological taxonomy of neurons of the primate striatum. *THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY* 313: 273-294.

76. Yuste, R. and Bonhoeffer, T. (2001). Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. *ANNU. REV. NEUROSCI.* 24:1071-89.
77. Yuste, R. and Bonhoeffer, T. (2004). Genesis of dendritic spines: insights from ultrastructural and imaging studies. *NAT. REV. NEUROSCI.* 5: 24-34.

Apéndice

Tortuga	Soma ancho (µm)	Soma alto (µm)	Núm dendritas	Bifurcación 1 (µm)	Diámetro 1 (µm)	Espinas 1	Bifurcación 2 (µm)	Diámetro 2 (µm)	Espinas 2	Bifurcación 3 (µm)	Diámetro 3 (µm)	Espinas 3
1	15.62 ± 0.41	18.76 ± 0.62	3.68 ± 0.21	10.81 ± 0.91	3.19 ± 0.15	7.14 ± 0.23	16.89 ± 2.28	2.70 ± 0.14	7.54 ± 0.32	17.89 ± 4.16	3.13 ± 2.29	6.73 ± 0.56
2	14.70 ± 0.36	18.50 ± 0.60	2.96 ± 0.15	14.11 ± 2.75	3.43 ± 0.14	5.03 ± 0.25	30.78 ± 5.08	2.46 ± 0.13	6.65 ± 0.28	25.15 ± 5.80	2.34 ± 0.13	7.5 ± 0.42
3	14.85 ± 0.42	18.27 ± 0.50	3.48 ± 0.13	10.53 ± 0.95	2.99 ± 0.19	3.86 ± 0.25	20.15 ± 4.06	2.29 ± 0.16	4.96 ± 0.28	26.5 ± 9.09	1.97 ± 0.19	5 ± 0.44
4	14.58 ± 0.49	17.91 ± 0.68	3.33 ± 0.14	12.24 ± 1.53	3.00 ± 0.17	5.54 ± 0.36	21.65 ± 3.76	2.15 ± 0.14	6.82 ± 0.43	23.30 ± 4.11	2.48 ± 0.18	7.25 ± 0.46

Tortuga	Bifurcación 4 (µm)	Diámetro 4 (µm)	Espinas 4	Bifurcación 5 (µm)	Diámetro 5 (µm)	Espinas 5	Bifurcación 6 (µm)	Diámetro 6 (µm)	Espinas 6	Bifurcación 7 (µm)	Diámetro 7 (µm)	Espinas 7
1	22.36 ± 5.10	2.39 ± 0.29	7.14 ± 0.63	15.61 ± 4.98	3.31 ± 0.62	7 ± 1	31.24	2.84	7	20.59	4.26	5
2	37.50 ± 12.05	2.31 ± 0.19	7.62 ± 1.08	14.17 ± 6.84	1.83 ± 0.29	6.33 ± 0.66	22.5	1.25	7	0	0	0
3	22.82 ± 6.79	2.71 ± 0.24	4.85 ± 0.63	21.85 ± 9.10	2.25 ± 0.66	4.75 ± 0.47	33.75 ± 11.25	1.12 ± 0.12	5 ± 2	0	0	0
4	17.5 ± 5.03	2.08 ± 0.26	7.8 ± 0.37	18.75	1.25	8	0	0	0	0	0	0

Tortuga	Bifurcación 8 (µm)	Diámetro 8 (µm)	Espina 8
1	78.1	2.13	8
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0

Media y error estándar: se muestra la media y el error estándar para cada uno de los parámetros estudiados en las neuronas espinosas medianas del estriado de tortuga.