



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**Estudio morfológico de las principales
poblaciones de neuronas en el
Paleostriatum Augmentatum del cerebro de
tortuga.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

BIOLOGA

PRESENTA:

JANETH MENDOZA SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. JAIME AURELIO BARRAL CABALLERO

**Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla de Baz, Estado de México.
2013**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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**, (IN2132310), así como del **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, Ciencia Básica 167147), y de **PAPCA- FES Iztacala (2009-2010)** al Dr. Jaime Aurelio Barral Caballero

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

En primera instancia quiero agradecerle infinitamente a Dios por haberme permitido llegar hasta aquí y culminar una parte de mi vida tanto académica como personal y por poner en mi camino a todas y cada una de las personas que enseguida mencionare quienes significan mucho en mi vida.

Mi total y sincero agradecimiento a unos seres magníficos quienes me han dado la vida para poder lograr muchas metas y objetivos; que con sus enseñanzas a través del tiempo y de mi existencia me han impulsado a ser quien soy con mis defectos y virtudes, éxitos y fracasos , pero eso sin con el gran valor del amor fraterno.

No bastarían ni todas las palabras existentes y por existir para describir a mis PADRES: Gustavo Mendoza Mejía y Virginia Sánchez Lorenzana, pues las acciones dicen más que mil palabras y todo esta resumido en la siguiente frase:

“Los amo mucho papás”.

A mis hermanos con quienes he recorrido muchas experiencias a su lado disfrutando cada momento junto a ellos; Héctor, gracias por tu cariño, comprensión y sonrisas; que aunque a veces hay diferencias el cariño nunca se acaba ni cambia por nada; Gustavo Jr., te agradezco ese cariño y momentos juntos, risas, peleas y alegrías. A ambos los adoro muchísimo. Que más puedo decir son unos seres extraordinarios. Gracias infinitas por su apoyo.

A mis abuelitos Juana y Enrique y mis tíos Bety, Carlos, Chebo, Liliana, Eugenia y Alejandro, por enseñarme el valor del apoyo incondicional, pues recuerdo cuando me prestaban material para irme al campo; y por escucharme cuando lo necesite. Y a mi tío Héctor que en paz descanse, pues sé que desde el cielo me ayuda para salir adelante. Los adoro a todos y cada uno de ustedes.

Mis primos Liz, Kike, Ale, Diana, Nelly, Bombón, Dani y la pequeña de Karla; les agradezco cada uno de sus abrazos y sonrisas pequeños picaros. Los quiero mucho “primis”.

A mi gran amiga Ale por apoyarme en el transcurso de mi vida, tanto en los días difíciles como los felices. Por empujarme cuando sentía caerme, por tolerarme y por enseñarme el gran valor de la verdadera amistad esa que no se cae ni con el viento más fuerte. Que aunque ya te me adelantaste nunca olvidare todo lo que vivimos porque todos esos momentos son únicos e irrepetibles. No necesito escribir más pues sabes claramente lo que significas para mí. Te quiero muchísimo mi niña gracias por todo, algún día nos volveremos a encontrar.⁺

A mi tutor Jaime Aurelio Barral Caballero, quien forma parte fundamental de mi formación académica, por su confianza en mí para poder llevar a cabo este proyecto, sus enseñanzas, críticas y por compartir su espacio conmigo para poder sobresalir como persona hasta este momento y llevándome conmigo el gran valor de la dedicación en las cosas que amo, arma que me ayudo para llegar hasta este punto de mi vida. Agradezco toda la ayuda, amistad y paciencia brindada de su persona hacia mí. Muchas gracias.

A mis sinodales quienes se tomaron el espacio y tiempo valioso para poder reivindicarme y lograr la culminación de una etapa de mi vida con sus críticas y consejos. Agradeciendo infinitamente a la Dra. Ma. Rosa Ávila, Dra. Laura Colín. Dra. Mónica Isaías y Dra. Berta Segura. Gracias por todo su apoyo y comprensión.

A Yazmín Morlán Cahue y Luis Heriberto Opengo Piña, mis estimados profesores de biología en CCH-Naucalpan; por enseñarme que para lograr algo en esta vida es necesario luchar por ello pero no con arrebatos sino con el corazón y conocimientos. Gracias por ayudarme a encontrar mi verdadera vocación y por ser conmigo unas excelentes personas no solo como profesores sino también como amigos. Los aprecio y quiero mucho, ambos forman parte de mi vida.

A Nell quien es una personita que aunque no convivo mucho con ella siempre esta cuando la necesito sin poner excusas ni pretextos. Eres muy buena amiga te agradezco tus consejos e impulsos para ayudarme a salir adelante. Te quiero.

A mis grandes “cuates de laboratorio”, quienes han emprendido este camino junto a mí. Caro te agradezco tu apoyo incondicional y tu amistad tan sincera y por apoyarme en momentos difíciles dándome consejos; Migue, gracias por apoyarme y escucharme en mis momentos de depresión y frustración y por esos momentos de risas juntos; Aarón, gracias por esos “tips” tanto académicos como personales y por brindarme tu amistad, Ximena, te agradezco tu confianza y amistad, todos los momentos de risas y platicas que sin duda nos hacían reír mutuamente y Karla, gracias por permitirme conocerte.

A Jesús y Paty por ayudarme a la realización de “golgis” en donde pasábamos mucho tiempo, pero eso si siempre optimistas y con toda la disposición de trabajar.

A Benjamín y Pily por todo su apoyo y consejos brindados sin esperar nada a cambio pero siempre preocupados por mi existencia. Gracias.

Vianey Sánchez gracias por tu apoyo incondicional por ese interés en mí, por enseñarme que la palabra “no puedo” solo está en la mente, por brindarme tu amistad y cariño; en fin por dejarme conocerte como persona. Por esto y más gracias.

Belén Villavicencio, gracias por tomarte tu tiempo para conmigo por preocuparte y ayudarme. De verdad eres una excelente persona.

Carmen Cruz, gracias por confiar siempre en mí y apoyarme en todo cuanto puedes. Te aprecio mucho.

Agradezco a todas las personas que no he mencionado individualmente aquí pero que están siempre presentes en mi vida, vecinos y conocidos, pues su preocupación e interés por mi persona es lo más grato que puedo recibir.

Janeth

Contenido

Resumen	7
Introducción	8
Estructura y función del Estriado	11
Neuronas estriatales.....	16
Las Dendritas	18
Desarrollo dendrítico.....	20
Árboles dendríticos.....	21
Antecedentes.....	24
Justificación	30
Hipótesis del trabajo.....	31
Objetivos.....	32
Objetivo General.....	32
Objetivos Particulares.....	32
Material y Métodos	33
Método de Golgi.....	33
Resultados	36
Descripción de las neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga <i>Trachemys scripta elegans</i>	36
Soma	38
Patrones de arborización.....	38
Morfología de árboles dendríticos	41
AXÓN.....	45
Descripción de la (s) poblaciones de interneuronas presentes en el estriado dorso lateral de la tortuga <i>Trachemys scripta elegans</i>	46
DISCUSIÓN	48
CONCLUSIONES.....	55
Referencias	56

Resumen

En el sistema nervioso central de los vertebrados, los ganglios basales (GB) son estructuras conservadas desde el punto de vista evolutivo. Los GB mantienen la integridad del circuito sináptico a lo largo de toda la escala filogenética. El estriado recibe terminales glutamatérgicas de la corteza cerebral y del tálamo, donde establecen sinapsis principalmente con neuronas espinosas medianas de proyección (NEM). En especies filogenéticamente inferiores a mamíferos, la morfología de las NEM no es muy conocida, por lo que en este estudio se realizaron observaciones empleando técnicas de impregnación argéntica con el método de Golgi, para hacer descripciones de la morfología de las NEM del estriado dorsolateral de la tortuga y así contribuir a la comprensión de un mejor conocimiento de este importante circuito neuronal.

En el estriado de los cordados cerca del 95% son NEM, el otro 5% corresponde a interneuronas. Las NEM como su nombre lo indica poseen una gran cantidad de espinas a lo largo de sus dendritas, mientras que las interneuronas, por lo general, son estirpes neuronales que carecen de espinas, sin embargo el tamaño del soma es, por lo general, más grande. En nuestro estudio las NEM del estriado dorsolateral de la tortuga se caracterizaron por presentar un soma con un eje mayor de $18 \pm 3.38 \mu\text{m}$ y el eje menor de $15.41 \pm 2.92 \mu\text{m}$.

Las NEM estudiadas en el estriado dorsolateral (*paleostriatum augmentatum*) de la tortuga presentaron diversas formas del soma: 1) esférico, 2) ovoide, 3) fusiforme y 4) piriforme; siendo más abundante el esférico. Se determinó si existía algún tipo de arborización presente en las NEM, y aunque se pudieron reconocer principalmente cuatro distintos patrones de arborización (bicónico, parcial, planar y estrellado) no fue posible generalizar las arborizaciones dendríticas observadas con algún patrón en particular. También se midió la extensión de los árboles dendríticos, con un diámetro mayor promedio de $386.02 \pm 118.09 \mu\text{m}$; siendo mayor en las NEM de tortuga que lo reportado para mamíferos. Otras estirpes neuronales presentes en el estriado dorsolateral de tortuga, se catalogaron como interneuronas, ya que presentaron características morfológicas similares a las observadas en las interneuronas somatostatinérgicas y las parvalbuminérgicas de los mamíferos. Por último la proporción entre neuronas espinosas e interneuronas resultó similar a lo reportado para mamíferos.

En el presente trabajo se observa que la morfología de las neuronas de tortuga respecto a lo reportado para mamíferos no tiene grandes cambios. Sin embargo, es importante resaltar que se observaron pequeñas diferencias como la extensión del árbol dendrítico, el número de espinas dendríticas, el diámetro del soma, que sugieren que la estructura celular en el estriado dorsolateral de la tortuga se encuentra conservada desde un punto de vista filogenético. Las diferencias observadas pueden deberse a variaciones en los circuitos sinápticos acordes a los hábitos y al hábitat propio de esta especie en particular. Lo que sugiere la necesidad de estudios tanto morfológicos como electrofisiológicos para comprender el proceso que lleva a la formación de los ganglios basales en un cerebro de amniota con una corteza de tres capas, como es el caso del reptil, a un cerebro con una corteza de seis capas, como es el caso de los mamíferos.

Introducción

Los ganglios basales son estructuras altamente interconectadas de núcleos cerebrales presentes en el prosencéfalo y mesencéfalo de los cordados (Reiner et al., 1998; Wilson, 2004). Están asociados de manera muy importante a las funciones motoras, especialmente de organismos terrestres (Bargas et al., 1998; Surmeier et al., 2011). Se considera que en los amniotas actuales (reptiles, aves y mamíferos) los ganglios basales son muy similares entre sí, de acuerdo a las conexiones que establecen los circuitos sinápticos y los neurotransmisores involucrados, lo cual hace pensar que la evolución de los ganglios basales en amniotas está muy conservada (Marín et al., 1998; Medina y Reiner, 1995; Reiner et al., 1998).

La porción dorsal de los ganglios basales consiste en el estriado (caudado/putamen de los mamíferos), el globo pálido (GP, segmento interno del globo pálido en primates GPi), el segmento externo del globo pálido (GPe, o núcleo entopeduncular en no-primates), el núcleo subtalámico (STN) y la sustancia nigra (SN) (Wilson, 2004). Esta última se divide en dos porciones principales la sustancia nigra *pars compacta* (SNc) en la cual se localizan las neuronas dopaminérgicas y la sustancia nigra *pars reticulata* (SNr) formado principalmente por neuronas GABAérgicas, como se muestra en el diagrama de la figura 1.

Además de las estructuras dorsales de los ganglios basales, que se relacionan con funciones motoras y asociativas, también se encuentran las estructuras de la parte ventral de los ganglios basales (estriado ventral o núcleo

accumbens, el pálido ventral y el área ventral tegmental) que están asociadas a funciones como recompensa a estímulos placenteros (Bolam et al., 1995).

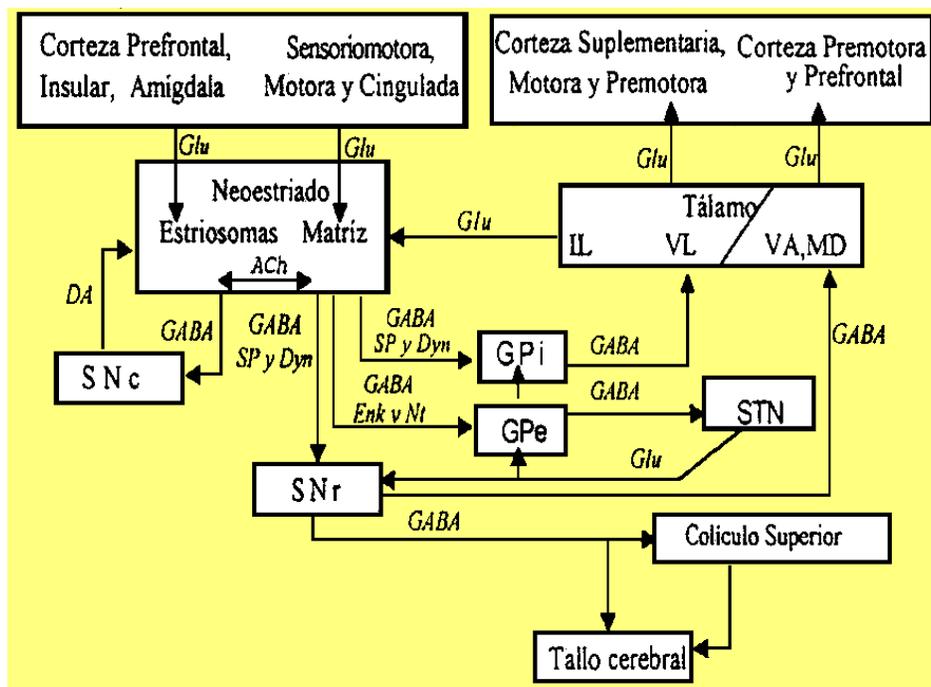


Figura 1. Principales aferentes y eferentes de los ganglios basales (GB). Compartimentalización de la entrada cortical hacia el núcleo estriado tal como se observa en los mamíferos actuales. Las células de proyección de los estriosomas proyectan hacia la sustancia nigra pars compacta (SNc) y reciben aferentes de ella. Las neuronas espinosas medianas de la matriz proyectan hacia la sustancia nigra pars reticulata (SNr) y 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 con el núcleo subtalámico (STN), quien a su vez proyecta a la SNr. La SNr proyecta al tálamo ventral anterior (VA) y dorsomedial (MD). Estos núcleos proyectan hacia las regiones límbicas de la corteza. Asimismo 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-gama-aminobutírico (GABA), neurotensina (Nt) y sustancia-P (SP). (Tomado de Barral et al., 2001).

Las subdivisiones estriatales y palidales basales están claramente presentes en los anamniotas (peces y anfibios) y la mayor influencia de estos núcleos basales sobre las funciones motoras parece ser ejercida por una vía de salida hacia el tectum (Reiner et al., 1998; Donkelaar, 1998). Por el contrario, en los amniotas modernos las partes estriatales y palidales de los ganglios basales

contienen la misma población básica de neuronas y el circuito funcional también parece ser muy similar en todos los amniotas, siendo su mayor influencia sobre las funciones motoras por un circuito de salida hacia la corteza cerebral y el tectum (Wilson, 2004; Reiner et al., 1998; Donkelaar, 1998).

En general se considera que las principales estructuras presentes en los ganglios basales ya existían en el cerebro de lo que podemos considerar como vertebrados inferiores, a partir de los cuales surgieron los demás vertebrados (Reiner et al. 1998). Esto implica que es posible reconocer, como es que estos han producido divergencias en algunas de sus estructuras. Los cambios en la actividad así como en la citoarquitectura de los ganglios basales han implicado un gran cambio en el grado de organización estriatal durante la transición evolutiva de anfibios a reptiles (Marín et al., 1998; Reiner et al., 1998).

En los amniotas los ganglios basales se encuentran localizados en la parte central o ventral del telencéfalo detrás de las áreas corticales, 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 Smeets, 1998).

El pallium de los anamniotas que cubre a los ganglios basales, se convierte en los mamíferos en la corteza de seis capas, mientras que en las aves y reptiles este tejido es denominado cresta ventricular dorsal (DVR) como puede observarse en las figuras 2 y 3.

Estructura y función del Estriado

Hasta hace algunos años a la región estriatal se le denominaba paleoestriado en anamniotas, mientras que en los amniotas se le conoce como estriado, diferenciando entre paleoestriado y neoestriado, que forma en conjunto un mecanismo integrador y motor responsable en gran parte de la actividad estereotipada de estos animales (Marín et al., 1998; Reiner et al., 1998). Revisiones recientes de la nomenclatura del sistema nervioso denominan a esta estructura como estriado dorsolateral o simplemente estriado (Fig.3) (Butler y Hodós, 2005).

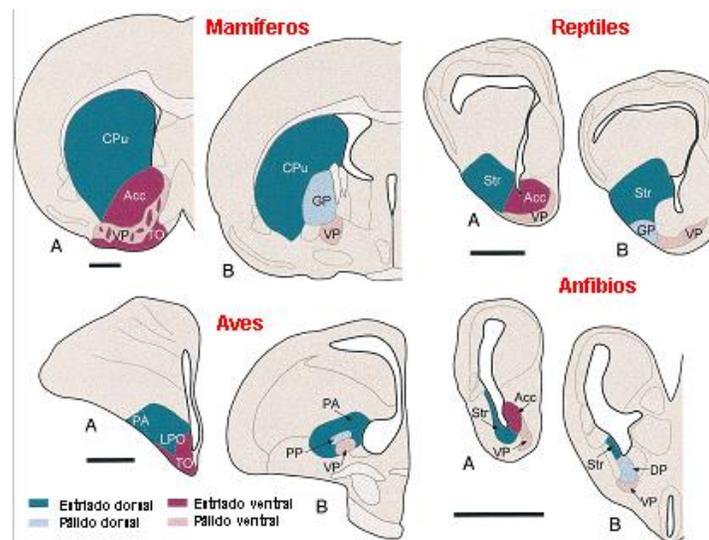


Figura 2: Sistema dorsal estriatopalidal dorsal y ventral. Los Ganglios Basales se encuentran organizados en un sistema estriatopalidal dorsal y ventral en todos los tetrápodos. Para cada clase de vertebrado, se muestran dos secciones representativas transversales del cerebro (A: rostral, B: caudal),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

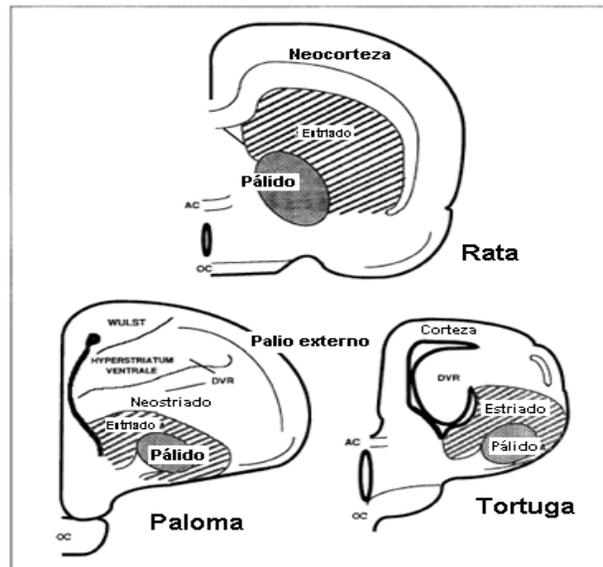


Figura 3: Tamaño relativo del estriado en cordados. Dibujos esquemáticos que muestran: Hemisecciones transversales a través de los Ganglios Basales de tres clases representativas de amniotas: rata (mamífero); paloma (ave) y tortuga (reptil). En los tres esquemas los ganglios basales comprenden un estriado y un pálido en el telencéfalo central/ o basal, por debajo de las regiones corticales. Nótese la tendencia a centralizar el estriado al incrementar la complejidad de la corteza en reptiles-aves-mamíferos. Abreviaturas: AC: comisura anterior; DVR: cresta ventricular dorsal y OC: quiasma óptico. (Modificado de Medina y Reiner, 1995).

El neoestriado en los mamíferos consiste en del núcleo caudado y el putamen, siendo una estructura importante de los ganglios basales íntimamente asociados con las funciones sensorio-motoras del sistema nervioso central (Chang et al., 1982). En todos los amniotas la parte estriatal de los ganglios basales es rica en acetilcolinesterasa (AChE) y colin-acetiltransferasa (CHAT) lo que indica la presencia de neuronas colinérgicas, así como de sustancia-P (SP), encefalinas (ENK) y dopamina (DA) (Reiner et al., 1998; Wilson, 2004). Sin embargo, las diferentes estirpes celulares no parecen estar distribuidas uniformemente en el estriado de todos los amniotas. Al menos en mamíferos, el

estriado medial está organizado en dos tipos de compartimentos distinguibles neuroquímicamente y morfológicamente, los parches o estriosomas y la matriz o matriosomas (Graybiel, 1990; Wilson 2004). Los parches constituyen cerca del 15% del volumen del estriado. Han sido observados en todas las especies de mamíferos estudiados. No obstante esto no ha sido demostrado para los saurópsidos (aves y reptiles), por lo tanto, la compartimentalización parece ser una característica exclusiva de los mamíferos. Los parches así como las neuronas de proyección son pobres en AChE y calbindina, una proteína que captura calcio; pero son ricas en receptores a opiáceos tipo mu; en comparación con las neuronas de la matriz estriatal. Las neuronas de los parches proyectan hacia las neuronas dopaminérgicas tegmentales en los mamíferos, sin embargo, se ha reportado la presencia de AChE, receptores a opiáceos tipo mu y calbindina (características presentes en las neuronas del estriosoma de mamíferos) en neuronas de proyección de aves y reptiles (Reiner et al., 1998).

El estriado es el principal núcleo de entrada de información a los ganglios basales recibiendo aferencias glutamatérgicas de la corteza y el tálamo así como fibras dopaminérgicas de las neuronas del área tegmental (VTA) y la sustancia nigra *pars compacta* (SNc) (Bargas et al., 1998; Reiner et al., 1998; Smeets et al., 2000; Wilson, 2004; Surmeier et al., 2011).

En todos los amniotas estudiados la mayor parte de las neuronas del estriado son neuronas de proyección; es decir, sus axones proyectan fuera de este núcleo y establecen sinapsis fuera de él; estas neuronas reciben el nombre

de espinosas medianas (NEM) por el gran número de espinas dendríticas, su neurotransmisor principal es el ácido- γ -aminobutírico (GABA) (Fig.4).

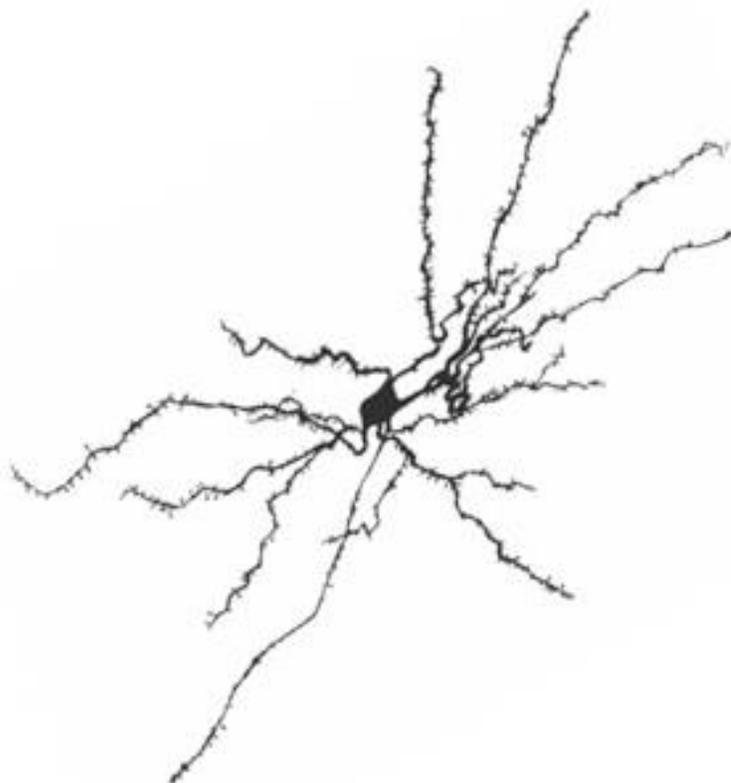


Figura 4. Reconstrucción de una neurona espinosa mediana (NEM). Reconstrucción de cortes seriales de una neurona espinosa mediana del estriado de la tortuga marcada con biocitina mediante el empleo de una cámara lucida. Nótese el gran número de espinas dendríticas. Tomado de Barral et al.2010.

Existen además otras estirpes neuronales que establecen conexiones con las NEM y con otras neuronas sin proyectar a ningún otro núcleo, formando los diversos tipos de interneuronas propias del estriado (Bargas et al., 1998; Misgeld et al., 1979; Kawaguchi, 1993; Wilson, 2004). Sus características se han

determinado por medio de registros electrofisiológicos, técnicas histológicas e identificación inmunocitoquímica basada en el contenido de neuromoduladores y neurotransmisores que poseen. En ese sentido se han descrito principalmente tres tipos de interneuronas, aunque no se ha descartado la posibilidad de que existan otras estirpes neuronales (Wilson, 2004):

1.- Interneuronas colinérgicas: Constituyen en mamíferos del 1 – 2 % del total de células del estriado en la rata, expresan la enzima AChE; su soma mide de 50 - 60 μm de diámetro y exhiben grandes árboles dendríticos con un bajo número de espinas y con un diámetro aproximado de 500 μm . Estas interneuronas constituyen una de las mayores fuentes de acetilcolina del sistema nervioso central (Wilson, 2004; Kawaguchi, 1993).

2.- Interneuronas que contienen parvalbúmina: Son células sin espinas que liberan GABA/parvalbúmina, su soma tiene un diámetro aproximado de 10 - 30 μm , presentan varicosidades en las zonas más distales del soma y poseen campos dendríticos locales y extendidos (Wilson, 2004; Kawaguchi, 1993).

3.- Interneuronas somatostatinérgicas: Son neuronas de tipo bipolar y su soma mide entre 10 - 20 μm de diámetro, sus dendritas son lisas y rara vez ramifican, este tipo de interneuronas presentan disparo regular con pronunciada adaptación y expresan la enzima sintasa de óxido nítrico (Wilson, 2004; Kawaguchi, 1993).

Se han realizado extensos trabajos en los ganglios basales de los mamíferos, donde se analizan neuronas estriatales con las clásicas técnicas de

Golgi describiendo varios tipos de células en el gato (Kemp y Powell, 1971a), el mono (Fox et al., 1971; Difiglia et al., 1976), y la rata (Danner y Pfister, 1979).

Sin embargo, con excepción de la morfología somática y dendrítica de las neuronas espinosas medianas, la descripción y clasificación de otras neuronas no se ha comprendido en su totalidad (Chang et al., 1982). Obteniendo como resultado tres grupos básicos de tamaños somáticos en el estriado de rata. Estos grupos son:

- a) Células grandes con diámetro de soma mayor de 20 μm .
- b) Células medianas con diámetro de soma equivalente de 10 - 20 μm .
- c) Células pequeñas con diámetro de 10 μm .

Adicionando además características morfológicas como: el aspecto de la superficie de las dendritas (presencia o ausencia de espinas; varicosidades), longitud dendrítica, patrones de bifurcaciones dendríticas y patrones de distribución axonal (Chang et al., 1982).

Neuronas estriatales

Como se mencionó las principales neuronas del estriado son llamadas neuronas espinosas medianas, el soma de estas neuronas oscila entre 12 y 20 μm de diámetro; como su nombre lo indica contienen espinas dendríticas, cuyas cabezas oscilan entre 0.11 μm y 0.95 μm de diámetro y una longitud de 0.35 μm a 2.80 μm , por lo general el cuerpo celular y el inicio de las dendritas primarias

usualmente están libres de espinas (Wilson, 2004; Kemp y Powell, 1971b; Pleniz y Wickens, 2010; Surmeier et al., 2011).

En los mamíferos se estima que el 95% de la población de neuronas estriatales son neuronas espinosas medianas (NEM's) estas neuronas proyectan hacia el globo pálido y a la sustancia nigra (SN) y utilizan GABA como neurotransmisor. Las neuronas espinosas medianas además emiten colaterales que establecen contactos sinápticos con las dendritas, con espinas de otras dendritas y el soma de otras neuronas espinosas medianas (Wilson, 2004). Existen además de las NEM en el estriado, algunas interneuronas que también utilizan GABA como neurotransmisor principal (Wilson, 2004). En la figura 5 se muestra una fotomicrografía de una de estas interneuronas, pueden apreciarse las diferencias respecto a las NEM.

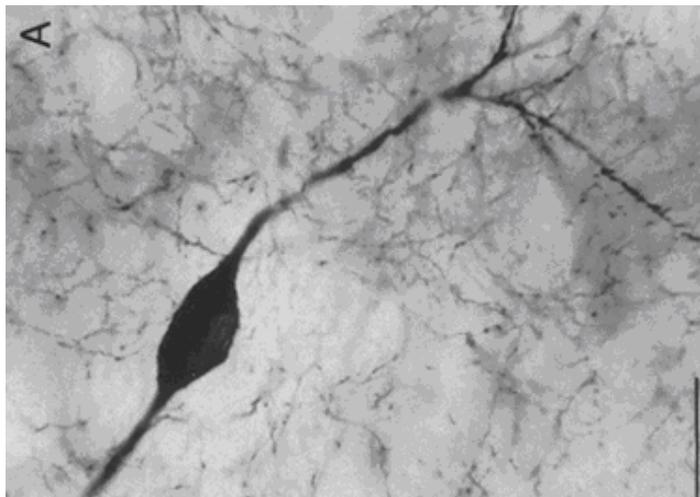


Figura 5. Reconstrucción fotomicrográfica de una interneurona de mamífero. Reconstrucción microfotográfica de una interneurona teñida con la técnica de impregnación argéntica de Golgi. Tomada de Kawaguchi et al., 1995).

Las interneuronas pueden también ser reconocidas por características morfológicas como: patrón de arborización dendrítica y axónica. La arborización axónica puede estar restringida dentro del área ocupada por el campo dendrítico (Wilson, 2004). A las interneuronas se les ha asociado con una función en el estriado como células inhibitorias teniendo así una modulación gradual en la función de los ganglios basales (Wilson, 2004).

Avances recientes en el estudio de la estructura de las interneuronas incrementa la apreciación del papel inhibitorio en el estriado y por tanto la modulación de la actividad de las neuronas espinosas medianas. La comprensión de los aspectos morfológicos y fisiológicos de las interneuronas permitirá explorar y determinar como un cambio de la función estriatal podría modificar nuestra concepción de los procesos de los ganglios basales (Fabri y Manzoni, 1996; Wilson, 2004; Surmeier et al., 2011).

Las Dendritas

Las dendritas son procesos neuronales que reciben entradas sinápticas siendo fundamentales en el sistema nervioso, además cuentan con características básicas en el nivel molecular, celular y biofísico. (Fiala y Harris, 2008).

A pesar de que los cambios evolutivos en las dendritas no se han observado directamente, las inferencias acerca de su historia y la relación puede ser hecha por los estudios comparativos de los animales vivos. Las neuronas de diferentes especies o regiones del cerebro pueden tener orígenes evolutivos

similares (homología) o desempeñar papeles funcionales similares (analogía) (Fiala y Harris 2008).

La evolución de las dendritas debe ser considerada en términos de la función de todo el sistema, el nivel en el que la selección se produce directamente. Por lo tanto, las dendritas pueden cambiar como resultado de los hábitos y hábitat del organismo, para optimizar una función específica sujeta a las diversas limitaciones, a nivel celular o de red, o como un subproducto de la optimización de una función diferente, o simplemente como resultado de la deriva genética (Fiala y Harris, 2008).

Dentro de la anatomía comparativa se categoriza ampliamente a las neuronas según si aumenta o no su complejidad respecto al tamaño de su cerebro u órganos. Esta afirmación es enmarcada por primera vez por Santiago Ramón y Cajal en 1911: "...Desde la aparición de los primeros vertebrados, algunas neuronas individuales o grupos de neuronas se han modificado más o menos continuamente, sin llegar al estado actual de refinamiento. Por el contrario, algunas neuronas permanecen sin cambios durante largos periodos, parece impermeable a todo el progreso..." (Citado por Fiala y Harris 2008). Así pues comprender los principios que rigen los tipos de dendritas que establecen contactos sinápticos con otras, puede ayudar en la comprensión de sus diferentes funciones en el proceso de la información (Fiala y Harris, 2008).

Desarrollo dendrítico

La aparición de la estructura del árbol dendrítico *in vivo* ocurre en el contexto del desarrollo funcional del sistema nervioso. Esto es por lo tanto de importancia extrema para considerar la interacción entre vías de señalización intracelular y entradas hacia el desarrollo, en la forma de factores de crecimiento, entradas sinápticas e interacciones con otras células (Fiala y Harris, 2008).

Las dendritas se extienden del cuerpo de la célula y sus diversas bifurcaciones dan lugar al árbol dendrítico, que es estereotipado para los diferentes tipos de neuronas. Bajo una variedad de condiciones adversas la estructura del árbol dendrítico, así como de las espinas dendríticas y, en general, de su plasticidad pueden ser alteradas; por ejemplo, después de la exposición a drogas como la cocaína y la nicotina, que conlleva, al menos en humanos, a la susceptibilidad en enfermedades neurológicas. (Fiala y Harris, 2008).

Ramón y Cajal (Citado por Fiala y Harris, 2008) sostuvo que diferencias filogenéticas entre morfologías neuronales específicas apoyan la relación entre complejidad dendrítica y el establecimiento de las sinapsis. La complejidad de muchos tipos de neuronas de vertebrados, incluidas las células cerebelares de Purkinje, células piramidales corticales, y células mitrales del bulbo olfatorio, aumenta con la complejidad del sistema nervioso, como se puede ver en la figura 6. Estas diferencias son impulsadas tanto por la necesidad de hacer más conexiones como por la necesidad de establecer conexiones con otros tipos de células en determinados lugares. De acuerdo a lo expresado por Sholl (1956),

este es el modo de conectividad entre las neuronas que es la propiedad más importante en esta diversidad de morfologías (Fiala y Harris, 2008).

Árboles dendríticos

La clasificación de los árboles dendríticos ha sido difícil debido al gran número de arborizaciones que ocurren en el sistema nervioso central. Por esta razón estudios recientes apoyan el esquema simple propuesto por Ramón y Cajal en donde las neuronas son clasificadas como unipolares, bipolares y multipolares (Fig.7).

La contribución de las dendritas para la realización de conexiones sinápticas puede establecer por las bifurcaciones y por la extensión de los dominios espaciales del árbol dendrítico en su conjunto como se puede apreciar en la Tabla 1.1.

Una característica de la bifurcación del árbol dendrítico es el grado en que ocupan el dominio espacial de su arborización. El número de los segmentos de las bifurcaciones caracteriza el grado de ramificación del árbol dendrítico sugiriendo el crecimiento de procesos neuronales, estableciendo nuevos senderos de comunicación entre neuronas y las regiones cerebrales. Por lo cual recientemente la investigación ha despertado de nuevo el interés a la posibilidad de que cambios continuos del árbol dendrítico podrían jugar un papel importante en la función cerebral (Fiala y Harris, 2008).

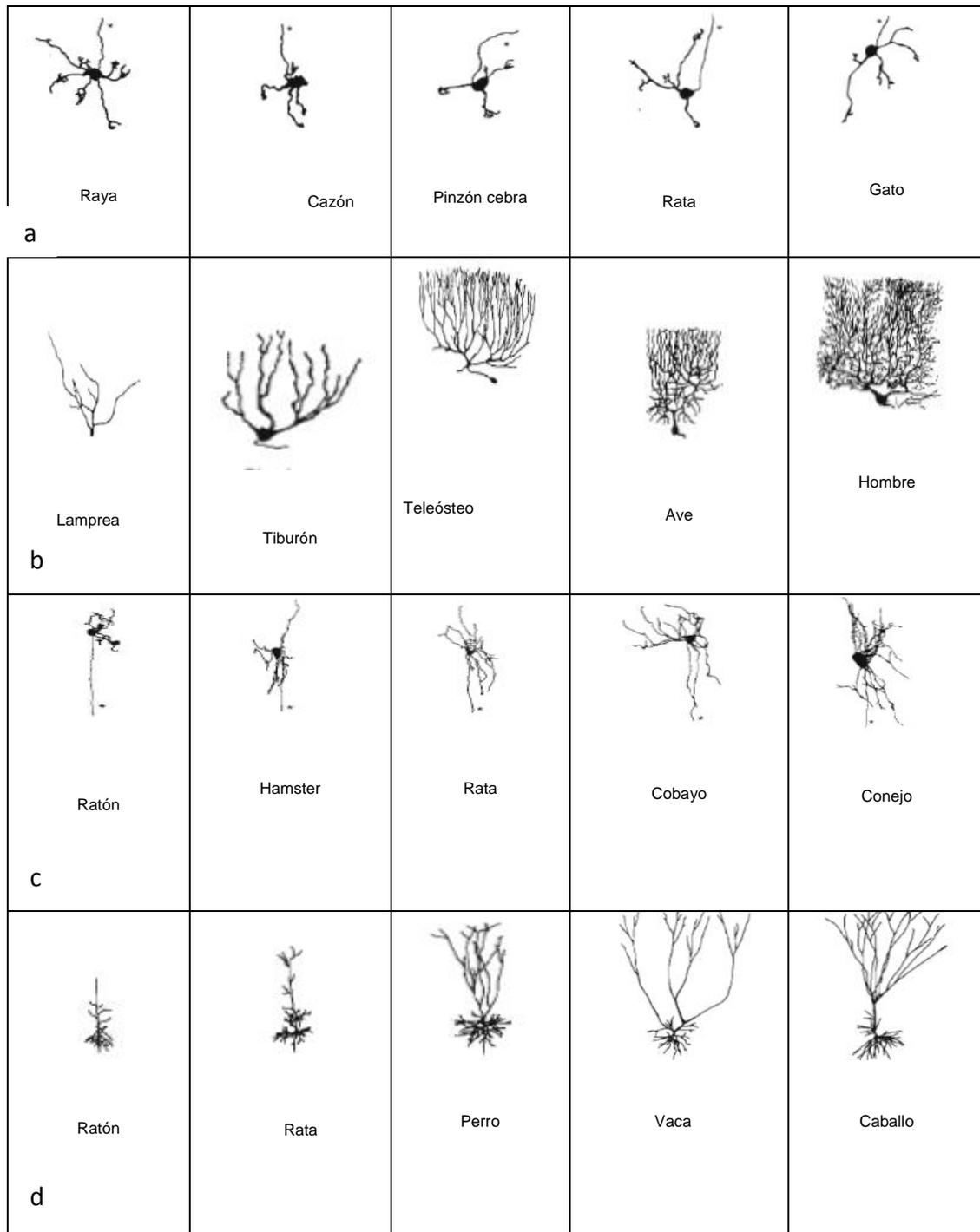


Figura 6. Comparación de las dendritas de los vertebrados a través de filogenia. Se pueden apreciar diferentes tipos de arborizaciones dendríticas en diferentes neuronas en diferentes especies de vertebrados. En **(a)** se observa: Célula granular de cerebelo de Raya de Nicholson et al. 1969; así como de cazón de Schaper 1898; pinzón cebra, rata y gato. En **(b)** Neuronas cerebelares de Purkinje (Nieuwenhuys 1967). En **(c)** Neuronas simpáticas (Purves 1998). **(d)** Neuronas piramidales neocorticales (Purves 1998, De Barasa 1960). Los asteriscos (*) indican la posición de los axones. Modificado de Fiala y Harris, 2008.

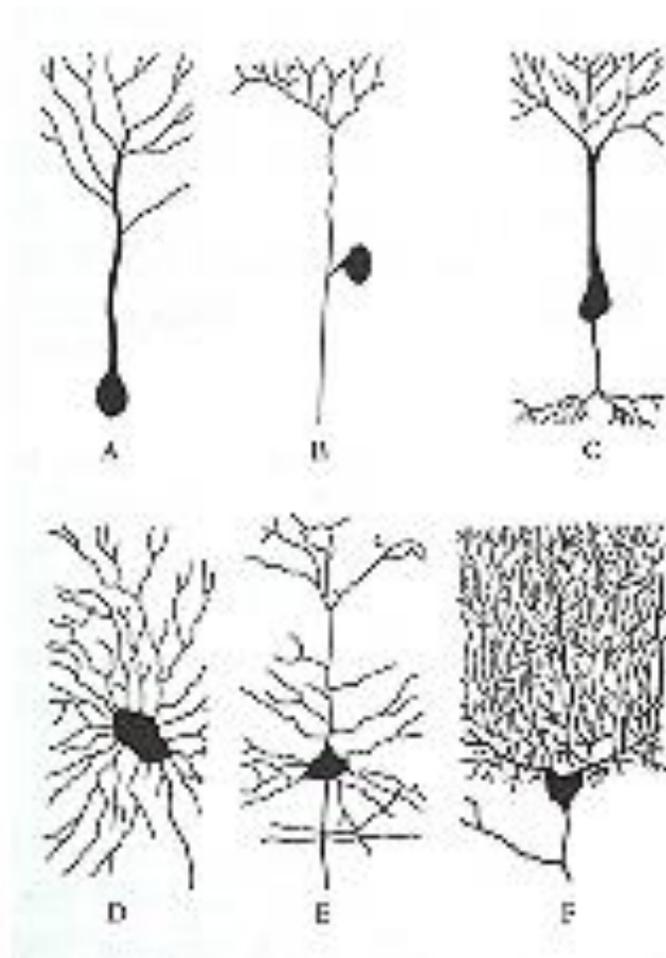


Figura 7. Diferentes tipos de neuronas de acuerdo a sus patrones de arborización. A. Células unipolares características de invertebrados. **B.** Las neuronas del ganglio de la raíz dorsal de la médula espinal son pseudomonopolares. **C.** Célula multipolar con un proceso dendrítico y uno axónico. **D.** Célula multipolar con dendritas emergiendo de toda la superficie del soma. **E y F.** Variantes de células multipolares (Tomado de Fiala y Harris 2008).

El modelo de arborización está claramente relacionado con la conectividad, pero también parece contribuir con el campo dendrítico, en particular cuando la dendrita presenta contactos sinápticos (Fiala y Harris, 2008). Asimismo las especializaciones sinápticas ampliadas en dendritas contribuyen considerablemente a la conectividad. Estas sinapsis permiten a las dendritas alcanzar múltiples sinapsis en un volumen cerebral relativamente pequeño. Sin embargo, probablemente tiene funciones adicionales relacionadas con el circuito cerebral (Fiala y Harris, 2008).

La enorme diversidad en la estructura, la composición y la plasticidad de las dendritas y sus especializaciones sinápticas sugieren que las contribuciones funcionales de estas estructuras y el cerebro sean muy diversas (Fiala y Harris, 2008).

En la tabla 1.2 se analizan las dimensiones típicas de las dendritas en algunos tipos de neuronas en los mamíferos.

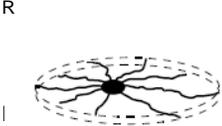
Se observa el diámetro del soma, el número de dendritas, el diámetro de las dendritas proximales, el número de puntos de ramificación, el diámetro de las dendritas distales, la extensión de las dendritas y la longitud total dendrítica.

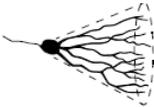
Antecedentes

El hecho de que la mayoría de las neuronas y sus dendritas se hacen más grandes y más complejas conforme el cerebro aumenta, o se incrementa el tamaño corporal sugieren que la convergencia (el número de sinapsis recibidas por las neuronas) y divergencia (el número de neuronas en contacto con una neurona), que contribuyen a la capacidad general integral de procesamiento de información del cerebro solo refleja, al menos en cierta medida, el tamaño total del campo dendrítico (Fiala y Harris, 2008).

Las dendritas de las neuronas espinosas generalmente tienen diámetros entre 0.5 μm y 1.0 μm presentando sus mayores diámetros en las ramificaciones más próximas de la dendrita hacia el soma (Wilson et al., 2004). La gran mayoría

**Tabla 1.1. Características de Patrones de Arborizaciones Dendríticas
(Modificado de Fiala y Harris, 2008).**

Patrón	Características	Ejemplos
<p>Sin dendritas</p> 	<p>El cuerpo de la célula carece de dendritas</p>	<p>Células de la raíz del ganglio dorsal Células del ganglio simpático</p>
<p>Radiación en huso</p> 	<p>Dos dendritas emergen de polos opuestos del cuerpo de la célula y tienen pocas ramas</p>	<p>Células Lugaro Células bipolares de la corteza.</p>
<p>Radiación esférica</p> <p>Estrellada</p> 	<p>Las dendritas irradian en todas direcciones de la célula</p>	<p>Neuronas espinosas Neuronas de núcleos subcorticales Células granulosas cerebrales</p>
<p>Radiación laminar</p> 	<p>Las dendritas irradian en todas direcciones dentro de un dominio pequeño del cuerpo de la célula</p>	<p>Células horizontales de la retina</p>

<p>Compensación</p> 	<p>Compensación de dendritas radiales del cuerpo de la célula</p>	<p>Células ganglionares de la retina</p>
<p>Radiación cilíndrica</p> 	<p>Las dendritas ramifican del soma central o de un dominio en forma de disco</p>	<p>Neuronas palidales Neuronas reticulares</p>
<p>Radiación cónica</p> 	<p>Las dendritas irradian del cuerpo de la célula dentro de un cono</p>	<p>Células granulosas del bulbo olfatorio</p>
<p>Radiación bicónica</p> 	<p>Las dendritas irradian en direcciones hacia cada lado de la célula</p>	<p>Dobles ramas y células piramidales de la corteza cerebral</p>
<p>Radiación de abanico</p> 	<p>Una o varias dendritas irradian del cuerpo de la célula en forma de abanico plano</p>	<p>Células de Purkinje</p>

de las neuronas presentan dendritas con bifurcaciones, aunque pueden carecer de ellas. En general las bifurcaciones, cuando las hay, surgen después de las primeras 20 μm . Las dendritas pueden llegar a presentar longitudes de 180 - 240 μm sólo en el estriado (Wilson, 2004; Kemp y Powell, 1971b).

Tabla 1.2. Dimensiones típicas de dendritas para algunos tipos de neuronas de mamífero (Modificado de Fiala y Harris 2008)

Neurona	Diámetro del soma (μm)	Diámetro de dendrita en soma (μm)	Diámetro de la dendrita proximal (μm)	Número de puntos de ramificación	Diámetro de la dendrita distal (μm)	Extensión de la dendrita* (μm)	Longitud total dendrítica (μm)
Célula granulosa cerebelo (gato)	7	4	1	0	0.2 - 2	15	60
Célula amácrina (estrellada) (Rhesus)	9	1	1	40	0.2 - 2	120	-
Célula granulosa (Giro dentado) (rata)	14	2	3	14	0.5 - 1	300	3200
Célula piramidal CA1 (rata)	21	-	-	-	-	-	11900
Dendritas basales	-	5	1	30	0.5 - 1	130	5500
Estrato Radiatum	-	1	3	30	0.25 - 1	110	4100
Estrato molecular	-	-	-	15	0.25 - 1	500	2300
Célula cerebelar Purkinje (conejillo de indias)	25	1	3	440	0.8 - 2.2	200	9100
Célula principal del globo pálido (Humano)	33	4	4	12	0.3 - 0.5	1000	7600
Célula Meynert de la corteza visual (Macaco)	35	-	-	-	-	-	15400
Dendritas basales	-	5	3	-	-	250	10200
Dendritas apicales	-	1	4	15	2 - 3	1800	5200
Motoneuronas espinales de gato	58	11	8	120	0.5 - 1.5	1100	52000

*Distancia media entre el cuerpo hacia las puntas de las dendritas más largas.

De acuerdo a Hillman (1979), las dendritas varían no solo en forma sino también el diámetro en toda su longitud. Variaciones en el diámetro dendrítico son determinantes importantes tanto de las propiedades eléctricas de señalización como de propiedades de transporte. Estas funciones podrían por lo tanto jugar un papel crítico en la optimización de la forma de las dendritas (Fiala y Harris, 2008).

En cuanto a los somas se ha descrito que las NEM pueden presentar varias formas, entre los más comunes se encuentran: somas esféricos, ovoides, piriformes o fusiformes de 10-20 μm de diámetro (Iwahori y Kiyota, 1987). Las neuronas espinosas del neocórtex en la rata presentan 4 dendritas primarias; de 5 a 6 dendritas en el gato y de 3 a 8 dendritas en el ratón (Wilson, 2004; Kemp y Powell, 1971b; Iwahori y Kiyota, 1987).

Por su parte; Difiglia y colaboradores (1976) en su estudio acerca de los tipos neuronales en el neocórtex del mono, aplicando la técnica de Golgi, muestran que existen diferentes tipos de neuronas, que pueden poseer o no espinas dendríticas; y con dimensiones variables en cuanto a diámetro del soma y la arborización.

Para clasificar los tipos de poblaciones neuronales y la posible variación morfológica en mamíferos, Andreu y colaboradores (1996) usan el método de Golgi, tomando en cuenta las variables del soma, del árbol dendrítico y el axón. Estos autores concluyen que existen diferentes grupos neuronales según sus patrones morfológicos, siendo por ello comparable con estudios previos realizados en serpientes y lagartijas ya que estos organismos poseen una

estructura común en el cerebro de todos los reptiles que es la cresta ventricular dorsal (DVR).

En el cerebro de algunos reptiles como: serpientes (*Boa constrictor*, *Natrix sipedon*) y tortugas (*Pseudemys scripta elegans*) se han descrito tres estirpes neuronales diferentes con base a la localización del cuerpo celular (Balaban, 1978), características del campo dendrítico y orientación del axón. Así en las serpientes, se han descrito las neuronas yuxtaependimales, localizadas cerca del ventrículo y con árboles dendríticos generalmente pequeños; las neuronas estrelladas espinosas, encontradas en la cresta ventricular dorsal, y las neuronas espinosas, cercanas a la región ventral del telencéfalo. En general las tortugas, poseen los tres tipos neuronales descritos para las serpientes (Andreu, et al. 1996), esto sugiere que algunos tipos neuronales como las neuronas espinosas de la porción medial del telencéfalo se encuentran presentes en grupos filogenéticamente muy antiguos, y es posible que grupos aún más primitivos como podrían ser anfibios y peces también presentan estirpes celulares similares, al menos para el telencéfalo central que corresponde al estriado (Reiner et al., 1998).

Además de los reportes realizados en neuronas espinosas medianas, también se han hecho estudios donde se ha descrito gran variedad de interneuronas con diferentes características morfológicas, químicas y fisiológicas (DeFelipe, 1993). Las interneuronas presentan características bioquímicas muy heterogéneas. La aplicación de técnicas de doble marcaje para visualizar la localización simultánea de varias sustancias (Vicent, et al., 1982), las cuales han

revelado que una neurona puede expresar uno o varios neurotransmisores. Posteriormente, el empleo de estas técnicas de localización para el estudio de las interneuronas GABAérgicas mostró que pueden expresar varios neurotransmisores (o sus enzimas de síntesis) y neuropéptidos [óxido nítrico sintasa (NOS), tirosina hidroxilasa (TH), colin-acetiltransferasa (ChAT), somatostatina (SOM), colecistoquinina (CCK), neuropéptido Y (NPY), polipéptido vasoactivo intestinal (VIP) y taquinina (TK)], así como diversas proteínas fijadoras de calcio [calbindina (CB), calretinina (CR) y parvoalbúmina] (DeFelipe, 1993; 1997).

Justificación

El estudio de las características morfológicas de las diferentes poblaciones de neuronas del estriado en reptiles como la tortuga es importante, pues nos permitirá establecer diferencias y similitudes con otros grupos de amniotas, así como de anamniotas. Si sabemos que los circuitos sinápticos existen prácticamente desde peces hasta mamíferos, resulta de gran relevancia conocer cuales son las diferencias y similitudes de los componentes de esos circuitos sinápticos. Tanto en los aspectos fisiológicos como en los morfológicos. Este trabajo contribuye a conocer las diferencias anatómicas entre las neuronas espinosas medianas e interneuronas en el estriado de la tortuga. Lo que ayudaría a comprender la evolución de los ganglios basales en los cordados.

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 la evolución de estos organismos es muy conservada (Medina y Reiner, 1995; Reiner et al., 1998; Marín et al., 1998).

Dentro del circuito de los reptiles se ha reportado que éstos presentan las mismas estirpes neuronales que se han presentado en mamíferos (Reiner et al., 1998), entre éstas destacan las NEM. Si la evolución de los ganglios basales está altamente conservada, entonces se podría esperar que las NEM de los reptiles presenten características similares a las reportadas para mamíferos, con respecto a la forma, tamaño y distribución de las principales poblaciones neuronales del estriado.

Por otro lado, si la proporción de neuronas de proyección respecto a las interneuronas es alrededor de 95 - 5% en roedores y de 97 - 3% en primates (Wilson, 2004), entonces si cabría esperar en el estriado de las tortugas una proporción de NEM menor al 95 %, y quizás una mayor proporción de interneuronas. Por considerar que se trata de un núcleo altamente conservado entre los amniotas; por el contrario si la proporción varía entonces los reptiles pudieran ser el punto de divergencia de la estructura de los ganglios basales como los conocemos en amniotas.

Objetivos

Objetivo General

- ❖ Describir la morfología de las principales poblaciones de neuronas del estriado de tortuga *Trachemys scripta elegans*.

Objetivos Particulares

- ❖ Analizar la citología del estriado de la tortuga mediante la técnica de Golgi y determinar de manera preliminar la o las poblaciones neuronales que conforman este núcleo.

- ❖ Determinar la posible existencia de patrones de arborizaciones dendríticas de las neuronas espinosas medianas de la tortuga.

- ❖ Describir la morfología de las neuronas espinosas de proyección en el estriado de la tortuga.

Material y Métodos

Se utilizaron 5 tortugas adultas de la especie *Trachemys scripta elegans*, sin distinción de sexo. Los organismos fueron anestesiados intraperitonealmente con pentobarbital sódico (100 mg/kg), posteriormente fueron decapitados para llevar a cabo la extracción de cerebro como ha sido descrito previamente (Barral et al., 2010), excluyendo los bulbos olfatorios y el cerebelo, tomándose el estriado para procesarlo con el método argéntico de Golgi, para su observación y toma de microfotografías para lo cual se utilizó un microscopio óptico.

Método de Golgi.

La caracterización de tipos neuronales por el método de Golgi nos permite observar la morfología de las neuronas (Andreu, et al., 1996). A continuación se describe cada uno de los pasos a seguir para esta técnica.

- **Induración del tejido:** Las muestras se fijaron en paraformaldehído al 4% y se dejaron por una semana, posteriormente se sumergieron en una mezcla de tetróxido de osmio (1%) - dicromato de potasio (cuatro partes de 3.5%) por 7 días a temperatura ambiente.

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

- **Cortes:** Para la realización de los cortes, se removió el exceso de la solución de nitrato de plata con fragmentos de 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 microfotografías (Cámara Moticam 500, Marca Motic, USA) con ayuda del microscopio óptico (Olympus BX-51, Japón).

Posteriormente se llevó a cabo la selección de neuronas y caracterización de variables:

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 (Powers y Reiner, 1980). En la figura 8 se observa el estriado dorso lateral de la tortuga, con indicaciones sobre los puntos donde se ubican las NEM observadas.

Se utilizaron las siguientes variables para obtener la mayor información posible sobre las NEM dentro de las cuales se encuentran: Soma (eje mayor/eje menor), forma del soma, extensión del árbol dendrítico, forma del árbol dendrítico. Además se hace una determinación preliminar de las poblaciones que conforman este núcleo.

Los parámetros medidos se cuantificaron como medias y errores estándar de la media (media \pm ESM) estableciendo comparaciones entre los organismos utilizados y con datos reportados en mamíferos por otros autores (Andreau, et al., 1996).

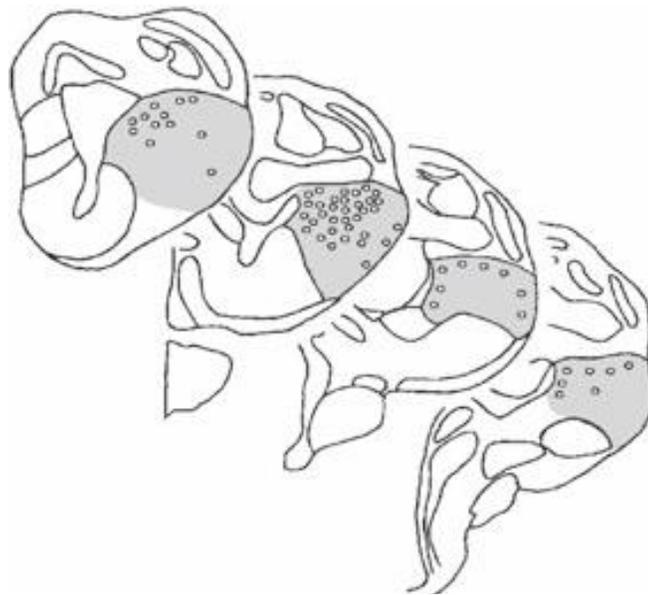


Figura 8. El estriado dorsolateral de la tortuga. Esquema que muestra la disposición del estriado dorso lateral en el cerebro de la tortuga, el cual está marcado en gris. (*Paleostriatum Augmentatum* de acuerdo al atlas de Powers y Reiner 1980, (Modificado de Barral et al., 2010).

Se tomaron microfotografías de las NEM en diferentes planos y se llevó a cabo la reconstrucción para una mejor visualización de la morfología de las neuronas para obtener cada una de las variables estudiadas (Figura 9).

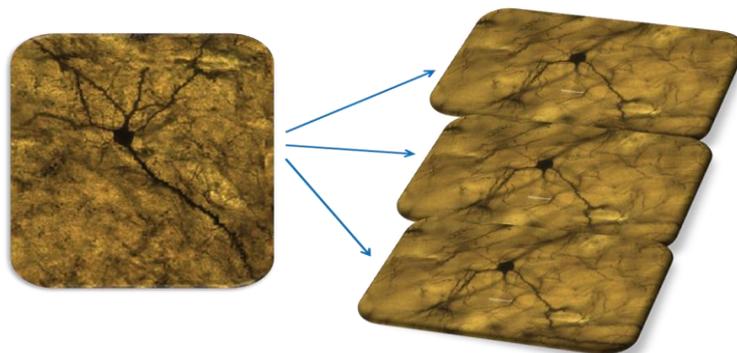


Figura 9. Modo de reconstrucción de las neuronas espino-mediana. Puede observarse que se toman microfotografías de la neurona desde distintos planos (lado derecho) para obtener una mejor reconstrucción de la neurona a observar (lado izquierdo).

Resultados

Las neuronas localizadas en el estriado dorsolateral de la tortuga resultaron ser en su gran mayoría NEM (94 de 105). A las cuales se les midieron distintas variables como: forma del soma, diámetro del soma, extensión del campo dendrítico, forma del campo dendrítico; se considero además la existencia de otras estirpes neuronales. Así como la representación gráfica de cada una de las variables para comparar con otros estudios ya reportados a través de la recopilación de bibliografía.

Descripción de las neuronas espinosas medianas del estriado de la tortuga Trachemys scripta elegans.

Las NEM's del estriado de la tortuga *Trachemys scripta elegans* poseen una cantidad considerable de espinas, presentando una densidad media de 6.37 espinas/10 μm (González, 2011), el tamaño de los somas osciló de 15 a 18 μm de diámetro y se puede agrupar de acuerdo a su forma en: a) esférico, b) ovoide, c) piriforme y d) fusiforme. A su vez la densidad de las espinas dendríticas es de 1.56 ± 0.27 espinas/10 μm en dendritas primarias incrementándose a 5.67 ± 0.15 espinas por cada 10 μm en promedio, conforme se va uno alejando del soma el número de espinas se va incrementado, así mismo su forma también es variable de una célula a otra. Las dendritas tienen una estructura y una extensión (patrón de arborización) diferente en cada una de las células estudiadas, teniendo como promedio de extensión del campo dendrítico de 386.02 ± 118.09 μm y en cuanto a sus formas, a pesar que son muy irregulares, en general se pudieron distinguir de acuerdo a lo propuesto por Fiala y Harris (2008, Ver Tabla 1.1) en cuatro tipos generales: a) Bicónica, b) parcial, c) estrellada y d) planar.

El axón de las neuronas espinosas de tortuga puede originarse de la dendrita primaria o del soma como lo reportado en mamíferos y su extensión no pudo ser medida en su totalidad debido a la técnica empleada y sobre todo la longitud tan extensa que tienen los axones.

En general, y tomando en cuenta todos los datos anteriores se pudo realizar una reconstrucción aproximada de las células (fig.10).

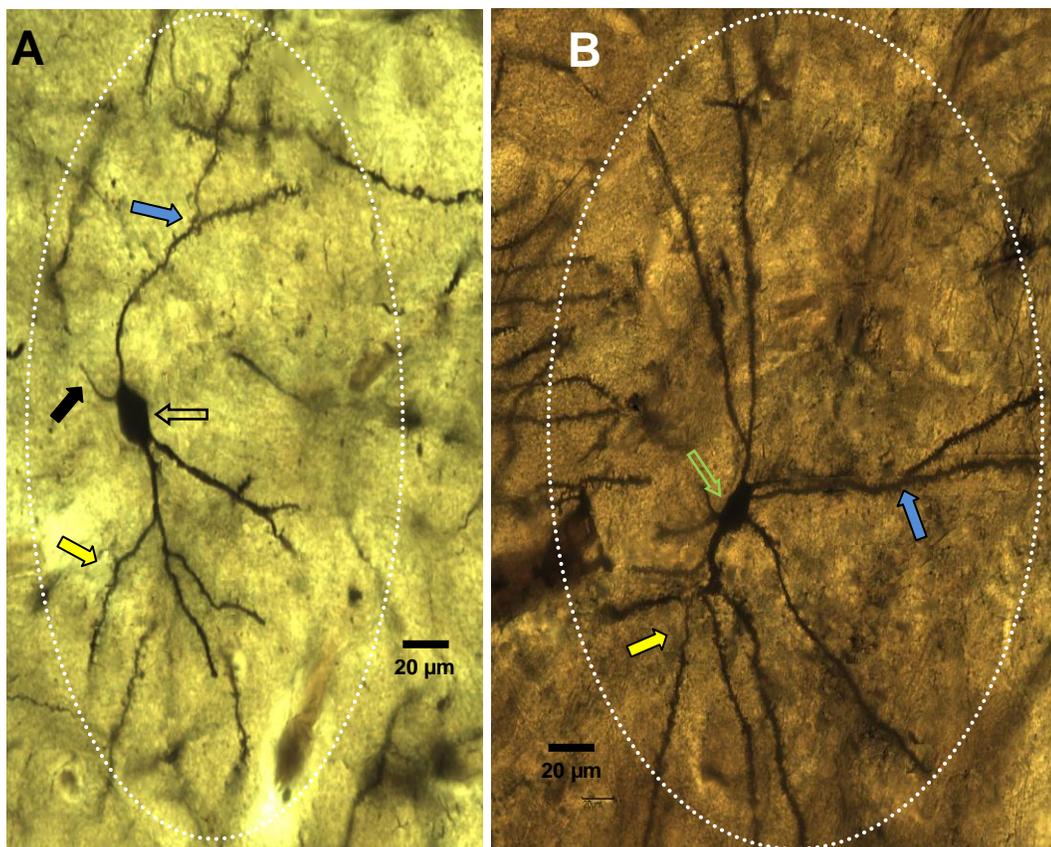


Figura 10. Microfotografía de la principal población de neuronas en el estriado dorsolateral de la tortuga, neuronas espinosas medianas (NEM's): Reconstrucciones de microfotografías en donde se observa el soma (Figura A y B; flecha vacía), dendritas (Figura A y B; flecha amarilla), bifurcación (Figura A y B; flecha azul), extensión del campo dendrítico (Figura A y B; elipse blanca) y en algunos casos se puede observar el axón (Figura A; flecha negra) Escala 20 µm.

Soma

Los somas de las neuronas espinosas medianas de la tortuga *Trachemys scripta elegans* presentaron cuatro formas distintas entre las que se encuentran: 1) esférica (58.51%), 2) ovoide (29.78%), 3) piriforme (8.51%) y 4) fusiforme (3.19%) (figs.11, 12); donde se observa que la forma predominante es la esférica y la fusiforme sólo se observó ocasionalmente en NEM. Para el diámetro del soma se tomó el eje mayor (largo) el cual fue de $18 \pm 3.38 \mu\text{m}$ y el eje menor (ancho) de $15.41 \pm 2.92 \mu\text{m}$ en promedio (fig.13), para cada tipo de soma se encontró que los somas esféricos tenían $18.04 \pm 0.44 \mu\text{m}$ de eje mayor y $15.78 \pm 0.38 \mu\text{m}$ de eje menor; los somas ovoides tenían $19.21 \pm 0.71 \mu\text{m}$ de eje mayor y $14.89 \pm 0.67 \mu\text{m}$ de eje menor; los somas piriformes tenían $18.87 \pm 1.13 \mu\text{m}$ de eje mayor y $14.98 \pm 0.78 \mu\text{m}$ de eje menor; finalmente los somas fusiformes presentaron $20.21 \pm 1.01 \mu\text{m}$ de eje mayor y $14.91 \pm 0.52 \mu\text{m}$ de eje menor.

Patrones de arborización

Los patrones de arborización de las NEM's del estriado de la tortuga (*Trachemys scripta elegans*) no presentaron formas muy bien definidas, sin embargo se pudieron agrupar en cuatro formas básicas que son: 1) bicónica (53.19%), 2) parcial (15.95%), 3) estrellada (12.77%) y 4) planar (18.08%). (Fig.14). Considerando que de acuerdo a la ubicación de la neurona dentro del estriado corresponde el patrón de arborización que presenta para llevar a cabo su actividad sináptica con otras neuronas; o bien, pueden llegar a tener una especialización en particular por un grupo de células lo que le confiere una forma determinada.

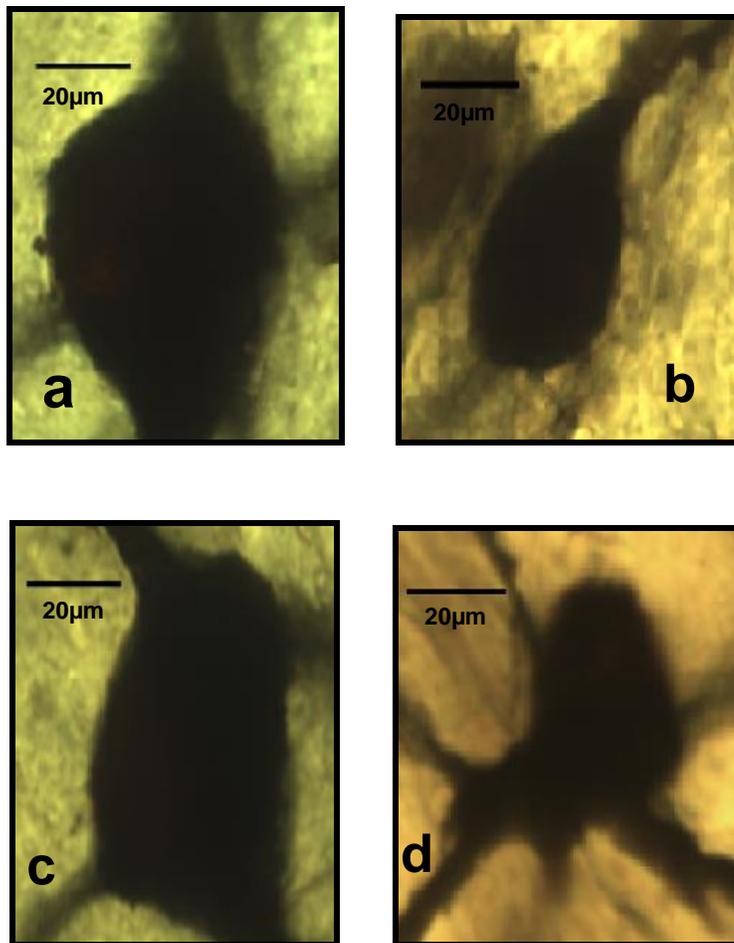


Figura 11. Microfotografías de somas de las neuronas espinosas medianas. En la figura se ilustra cada uno de los somas observados: a) esférico, b) ovoide, c) piriforme y d) fusiforme. Escala 20 µm.

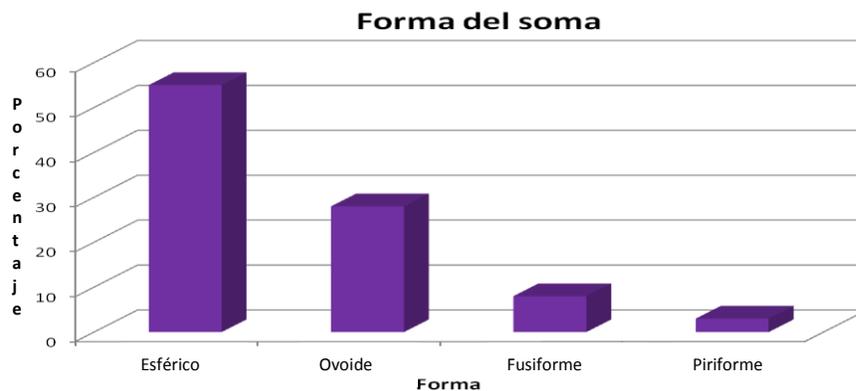


Figura 12. Gráfica de barras mostrando el porcentaje de cada una de las formas del soma. Se puede apreciar el porcentaje obtenido de cada una de las formas del soma presentes en el estriado de tortuga.

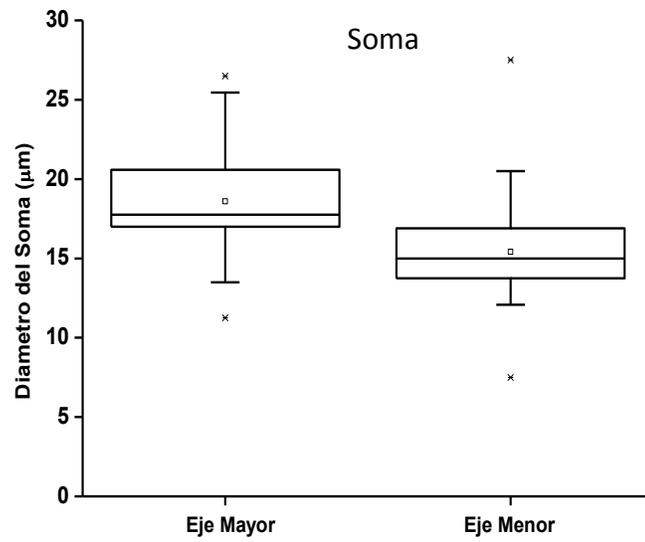


Figura 13. Gráfica donde se muestra el diámetro del soma. La relación entre los diámetros del eje mayor y el menor es muy similar entre ellos, lo que sugiere que la forma del soma es muy homogénea. Se muestra el promedio del diámetro del soma.

Morfología de árboles dendríticos

La morfología de los árboles dendríticos se determinó de acuerdo a Fiala y Harris 2008 (Ver Tabla 1.1), pudiéndose distinguir:

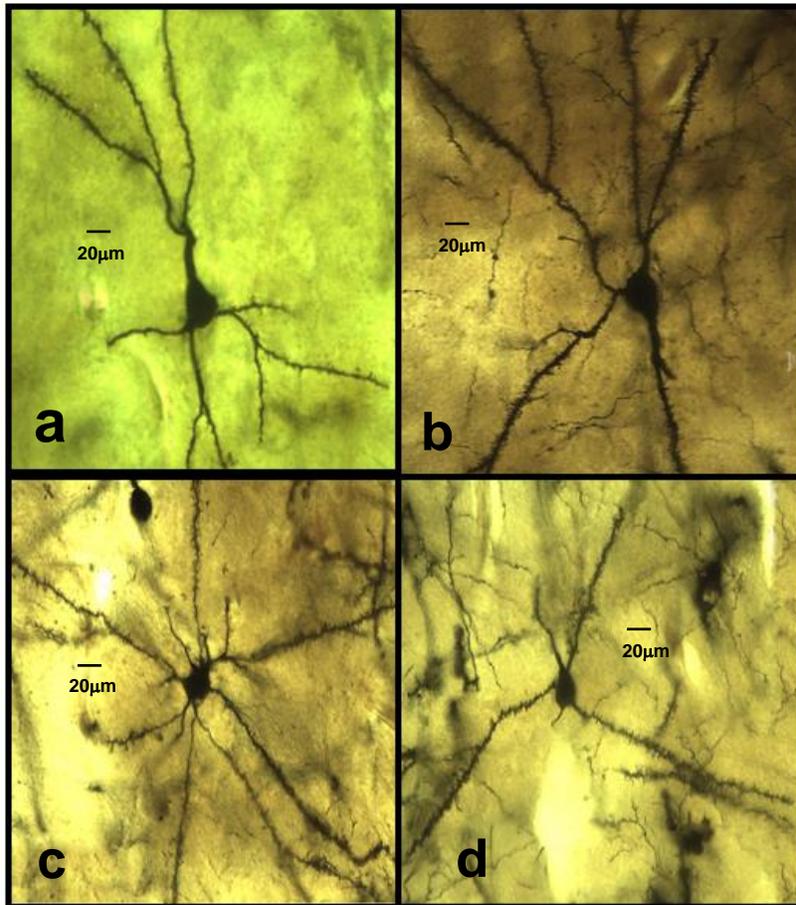


Figura 14. Patrones de arborización en neuronas espinosas medianas de tortuga. Tipos de arborizaciones presentes en neuronas espinosas: a) bicónica, b) parcial, c) estrellada y d) esférica. Escala 20 μm .

- Árbol dendrítico bicónico: Cuentan con dos conos dendríticos a ambos extremos de la neurona, su orientación es restringida en un solo dominio dentro de la célula, lo cual puede concluirse como una especialización para cierto tipo de células nerviosas. Ver figura 14a y 15.

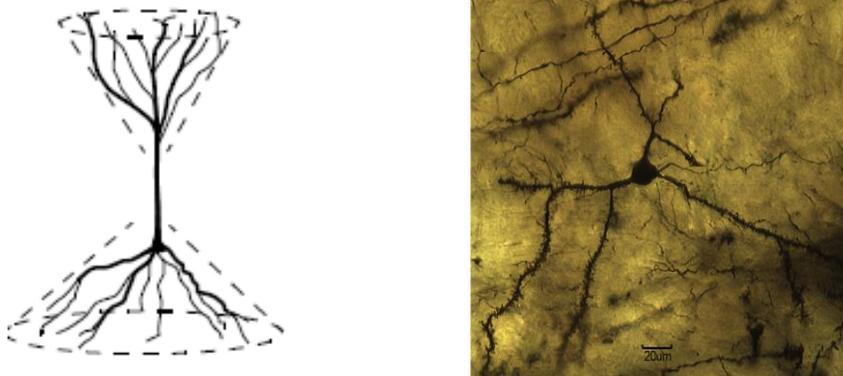


Figura 15. Neurona con un árbol dendrítico bicónico. A la izquierda se muestra un esquema de este tipo de arborización (tomado de Fiala y Harris, 2008) mientras que a la derecha se muestra una NEM de tortuga aparentemente bicónica.

- Árbol dendrítico parcial: El espacio dendrítico se enfoca a un solo extremo de la neurona. Lo cual hace pensar que neuronas que cuentan con este tipo de árbol dendrítico hacia una sola dirección. Ver figura 14b y 16.

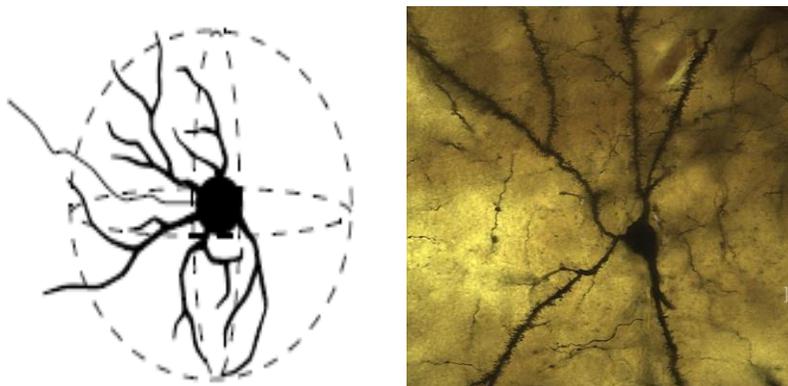


Figura 16. Neurona con un árbol dendrítico parcial. A la izquierda se muestra un esquema de este tipo de arborización (tomado de Fiala y Harris, 2008) mientras que a la derecha se muestra una NEM de tortuga aparentemente parcial.

- Árbol dendrítico estrellado: Este tipo de arborización se caracteriza por que sus dendritas se orientan hacia todas las direcciones de la célula siendo característica tanto en neuronas espinosas de tortuga como de mamífero. Fig. 14c y 17.

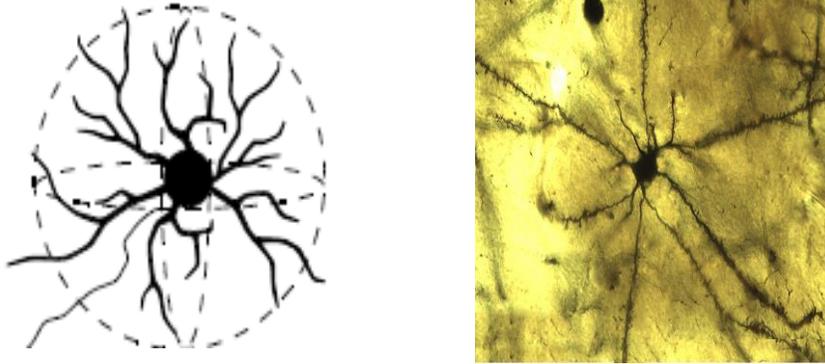


Figura 17. Neurona con un árbol dendrítico estrellado. A la izquierda se muestra un esquema de este tipo de arborización (tomado de Fiala y Harris, 2008) mientras que a la derecha se muestra una NEM de tortuga aparentemente estrellado

- Árbol dendrítico planar: Las dendritas irradian hacia todas direcciones de la neurona pero en un dominio pequeño dentro de la célula; se puede concluir que las dendritas al tener esa distribución tiene contacto “empalmado” con otras células observando así lo opuesto a las células bicónicas Fig.14d y 18.

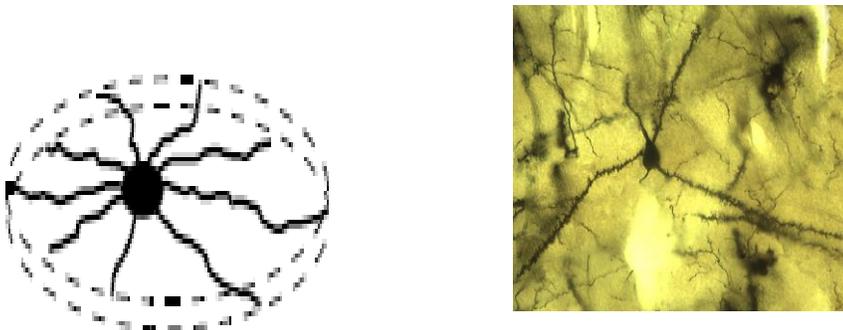


Figura 18. Neurona con un árbol dendrítico planar. A la izquierda se muestra un esquema de este tipo de arborización (tomado de Fiala y Harris, 2008) mientras que a la derecha se muestra una NEM de tortuga aparentemente planar.

Extensión del árbol dendrítico

La extensión del árbol dendrítico en las NEM de tortuga fue de $386.02 \pm 118.09 \mu\text{m}$ en promedio, probablemente debido a la fragmentación de las células podría existir cierta variabilidad en la medida tomada en cada una de las neuronas estudiadas. La extensión de los árboles dendríticos de las NEM de tortuga, presentan una extensión mayor a la reportada para las mismas estirpes neuronales en mamíferos (fig. 19).

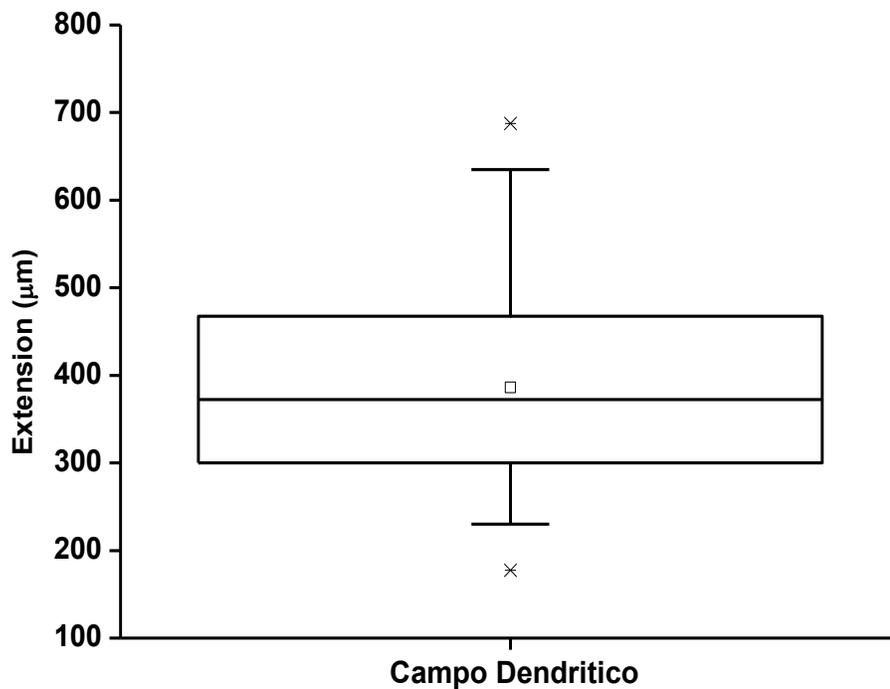


Figura 19. Gráfica de caja de la extensión del campo dendrítico. Se muestra el diagrama de caja de la extensión total del árbol dendrítico de las neuronas espinosas medianas estudiadas.

AXÓN

En los mamíferos los axones de las NEM se caracterizan porque emergen del soma, o en la unión de una dendrita con el soma, o en segmento proximal de una de las dendritas primarias (Kemp y Powell, 1971b; Difulgia et al., 1976; Dimova et al., 1980; Chang et al., 1982; Braak y Braak, 1982; Graveland et al., 1985a; Graveland y Difulgia 1985b; Iwahori y Kiyota 1987; Yenlink et al., 1991). Esto también se observó en las NEM de la tortuga (Fig. 20). Una vez que el axón aparece, tiene un diámetro de $1.30 \pm 0.11 \mu\text{m}$ en promedio. Debido a las limitaciones de la técnica de Golgi, y porque se utilizaron secciones coronales, no se pudieron observar los axones en toda su extensión, y sólo rara vez había axones colaterales. De las neuronas analizadas, en aproximadamente el 45% de los casos el axón surge directamente desde el soma (Fig. 20B), en 41% al inicio del tronco dendrítico (Fig. 20A) y en 14% de la unión de la dendrita con el soma (Fig. 20C).

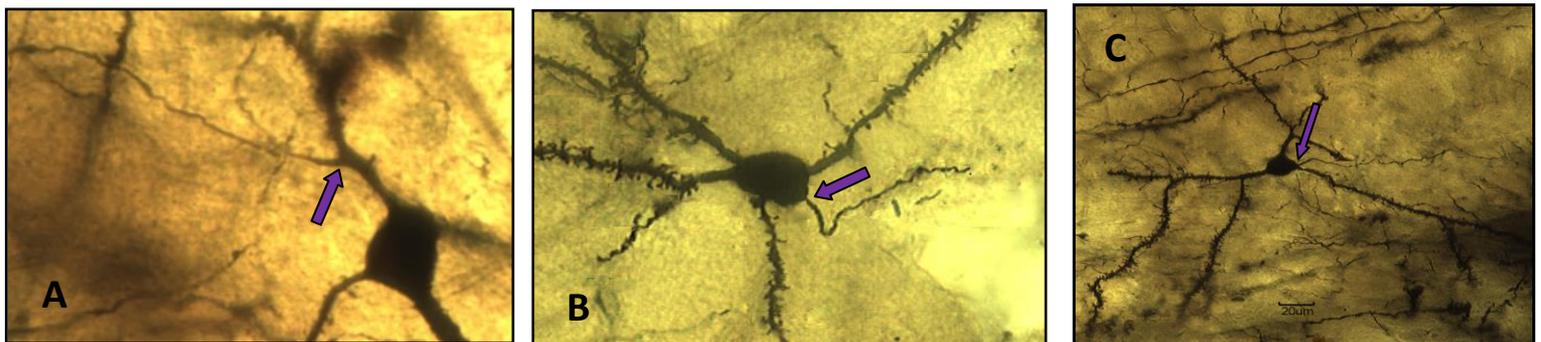


Fig. 20. El axón se origina de forma variable en las NEM del estriado de la tortuga. (A) Se puede observar que el axón se origina de una porción de la dendrita primaria, **(B)** el axón de esta neurona espinosa mediana se origina en el soma y **(C)** el axón se origina de la unión de la dendrita con el soma. Escala 20 μm .

Descripción de la (s) poblaciones de interneuronas presentes en el estriado dorso lateral de la tortuga Trachemys scripta elegans.

Del total de neuronas que fueron observadas y medidas, las células que se consideraron como Interneuronas resultaron menos del 10 % del total de las neuronas del estriado dorsolateral de la tortuga. En este núcleo se encontraron 2 tipos de neuronas que fueron consideradas como Interneuronas; dicha identificación se realizó con base a las características morfológicas que presentan (forma del soma, extensión del árbol dendrítico, presencia de espinas dendríticas y origen del axón); actualmente en el laboratorio se están realizando otras observaciones con la finalidad de determinar la existencia de otros tipos de interneuronas. En este estudio se observaron:

- **Interneuronas posiblemente GABA/Somatotastinérgicas** Las cuales presentan un eje mayor de 16 μm y un eje menor de 14.6 μm , la extensión del árbol dendrítico fue de 250 μm (n=3). La forma del soma es ovalada y sus dendritas tienen ramificaciones, aunque en menor número a las observadas en las NEM, en la neurona de la Figura 21 se puede apreciar claramente el inicio del axón que se proyecta hacia el lado derecho del soma.

- **Interneuronas posiblemente GABAérgicas que contienen parvalbúmina.** Las cuales cuentan con un eje mayor de 5 μm y uno menor de 5 μm , la extensión dendrítica fue de 106 μm (n=2). El soma es esférico y sus dendritas cuentan con varicosidades (Fig. 22). El tamaño de la célula está muy por debajo de lo

establecido en rata. Sin embargo debido a su gran parecido se catalogó de acuerdo a sus características morfológicas.

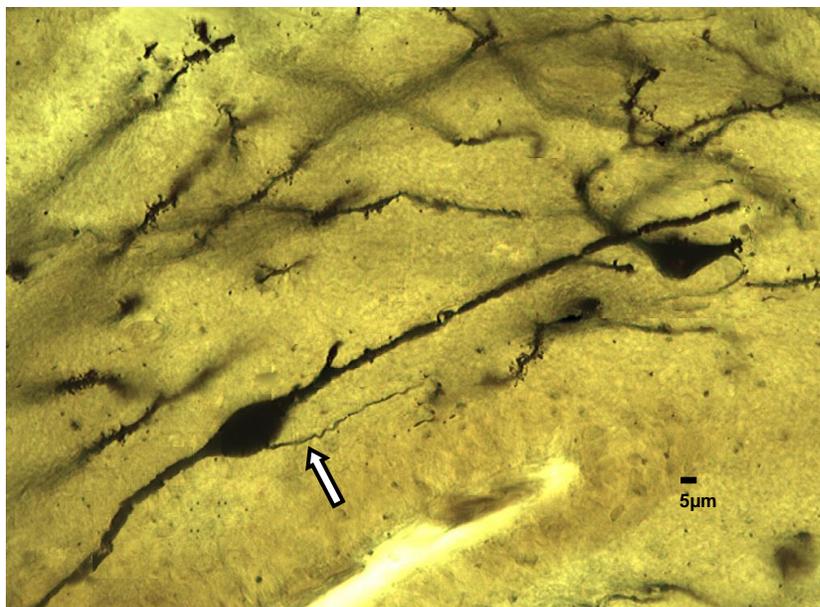


Fig.21. Interneurona aparentemente somatostatínérgica del estriado de tortuga. Puede observarse la estructura de la célula similar a la que presentan las neuronas somatostatínérgicas de mamífero como puede apreciarse en la figura 5, nótese también que el axón se origina del soma (flecha). (Escala 5 μm).

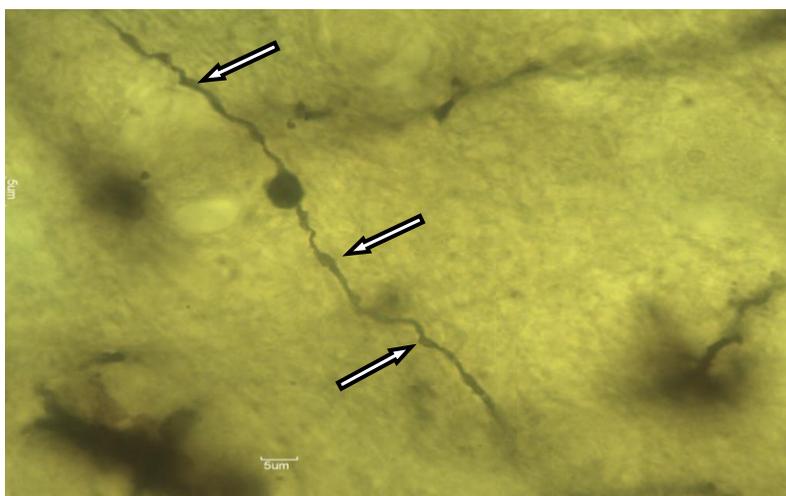


Figura 22. Interneurona semejante a las parvalbuminérgicas. Célula similar a la reportada para mamífero de acuerdo a sus características morfológicas pueden observarse las varicosidades en las dendritas (flecha). Escala 5 μm.

Las contadas células con apariencia de interneuronas que se observaron en el reptil, resultaron muy similares a las que se observan en mamíferos, pues presentan una estructura muy parecida, aunque en el caso de las parvalbuminérgicas el tamaño que se observó en el reptil es de 5 μm de diámetro, mientras que en mamífero se han reportado diámetros mayores: 10 a 30 μm (Wilson, 2004 y Kawaguchi, 1993) por lo cual se tomaron como referencia las características morfológicas para catalogar esta interneurona.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se muestran las características morfológicas de las NEM del estriado de la tortuga, que complementa el estudio iniciado previamente en el laboratorio (González-Sandoval, 2011), en aquel estudio se abordó principalmente el tema de las espinas dendríticas; mientras que este estudio se enfoca a la morfología de los somas, la extensión y forma del árbol dendrítico, además de manera preliminar a la proporción de neuronas espinosas e interneuronas. En términos generales los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran muchas similitudes con las NEM de mamífero, asimismo la proporción de neuronas espinosas medianas e interneuronas en el estriado de tortuga resultó comparativamente similar a lo reportado para mamíferos.

Las variables cuantitativas (eje mayor y eje menor) en relación al soma, presentaron similitudes con respecto a lo reportado en mamíferos ya que se encontraron dentro del rango reportado (12 - 20 μm). En relación a los aspectos

morfológicos, las formas de soma presentadas en las espinosas medianas de tortuga resultaron también muy similares a lo reportado para mamíferos. Las NEM de tortugas presentaron mayor frecuencia de somas esféricos u ovoides; y con menor frecuencia las formas fusiformes y piriformes.

Utilizando la metodología de clasificación descrita en el trabajo preliminar (González-Sandoval, 2011) comparativamente con mamíferos, las neuronas espinosas medianas de tortuga parecen corresponder a 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., 1985b), neuronas medianas tipo I de rata (Dimova et al., 1980; Chang et al., 1982), y con neuronas espinosas medianas en gato (Kemp y Powell, 1971a).

En relación a las dendritas pueden surgir aleatoriamente del cuerpo celular denominándose así como dendritas primarias las cuales posteriormente pueden bifurcarse en dendritas secundarias y terciarias al igual que en mamífero (Wilson, 2004; Kita y Kitai, 1994; Kemp y Powell, 1971b; Chang et al., 1982; Iwahori y Kiyota, 1987; Levine et al., 1986; Graveland y Difiglia, 1985a), aunque en ciertas ocasiones observamos dendritas sin bifurcaciones, la extensión de estas dendritas resultó ser mayor a lo reportado en mamíferos, aunque nuestros resultados muestran mayor longitud las dendritas de tortuga que las de mamífero. Por lo tanto también la extensión del árbol dendrítico resultó ser mayor que lo reportado en mamíferos (Fiala y Harris, 2008; Kemp and Powell, 1971b; Brizzee et al., 1981; Benes et al., 1985; Johnston et al., 1990). Una hipótesis para explicar esto podría

ser que las neuronas en el estriado del reptil se encuentran más separadas unas de otras que como se puede apreciar en el mamífero. El problema con el método de Golgi es que solamente se impregna un porcentaje del total de neuronas en un tejido dado. Por ello se realizaron experimentos preliminares en el laboratorio usando la tinción de Nissl, encontramos que la distribución de neuronas en el estriado dorsolateral de la tortuga fue de 14.49 ± 0.39 neuronas/ $100 \mu\text{m}^2$ (datos no mostrados), que parece ser menor a lo observado en mamíferos (Kemp y Powell, 1971b; Brizzee et al., 1981; Benes et al., 1985; Johnston et al., 1990). Si aparentemente existe un número menor de neuronas por unidad de área en el estriado de la tortuga que en el de mamíferos, podría apoyar la hipótesis de que la extensión del árbol dendrítico, y quizás el tamaño de las espinas dendríticas de las NEM se deba a que las células están separadas entre sí. Por lo tanto, cabe la posibilidad que la extensión que presenta el árbol dendrítico juegue un papel importante dentro de las neuronas espinosas medianas para poder establecer y asegurar los contactos sinápticos con otras células (Surmeier et al., 2011). Por otro lado, la fuerza o peso específico que las neuronas corticales tengan sobre el circuito estriatal afectan la forma en que las espinas dendríticas establecen contactos sinápticos con las terminales corticales (Surmeier et al., 2011).

No obstante lo anterior, en los mamíferos la corteza de 6 capas proyecta a prácticamente todas las regiones corticales a los ganglios basales. Sin embargo en los reptiles, quizás por ser considerado como el grupo filogenéticamente menos desarrollado de los amniotas, aparece por primera vez la corteza (en anamniotas lo que se observa es un pallium (Reiner et al., 1998), sólo que en el caso de los

reptiles trata de una corteza de tres capas (Reiner et al., 1998; Striedter, 2005) mientras que el tamaño relativo de los ganglios basales se mantiene en todos los amniotas (Reiner et al., 1998). Aquí cabe la posibilidad de que una corteza menos desarrollada como la de los reptiles ejerza menos influencia en el comportamiento del circuito estriatal que lo observado en mamíferos. En ese sentido, los experimentos electrofisiológicos llevados a cabo en el laboratorio muestran también grandes similitudes en el comportamiento del circuito estriatal (Barral et al., 2010) sin embargo, también se han observado algunas diferencias importantes a nivel sináptico (Sánchez-Mejorada et al., 2009). 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 con una menor entrada de fibras corticales.

En este estudio se tomaron en cuenta dos variables importantes, la extensión del árbol dendrítico, y el patrón de la arborización dendrítica que presenta cada una de las células observadas y estudiadas, nuestros datos sugieren que a pesar que se observa muchas similitudes con lo reportado en mamíferos (ver tabla 1.1 y fig.15; Fiala y Harris, 2008), existen algunas diferencias que pueden repercutir en el desempeño del circuito estriatal.

En primer término se trató de encontrar algún patrón en la arborización dendrítica. Aunque se pueden observar algunos patrones en las células estriatales, no fue posible agruparlas en algún patrón en particular. No obstante lo anterior, se pudieron reconocer arborizaciones planares, estrelladas, bicónicas y parciales. Por ejemplo, las que tienen solo arborización hacia un extremo (parcial)

podría ser que su posición es un tanto orientada hacia una región por lo cual su estructura le permite tener contacto con las células vecinas (por ejemplo, el caso de las zonas limítrofes del estriado con la corteza). En cuanto a las células con arborización hacia todas direcciones (estrellada), cuentan con una radiación de las dendritas que les permite establecer contactos sinápticos con un gran número de células que las anteriores.

Las células que presentan un tipo de arborización hacia los polos (bicónica), podría ser porque tienen solo contacto con un conjunto de células, sin embargo éstas reciben entradas sinápticas de otras células aledañas pero no regresan a esas mismas células sino que las transmiten a aquellas con las que mantienen contacto directo (en cada uno de sus polos), En ese sentido hay que recordar que en los mamíferos existe una distribución muy particular de las NEM, que es en parches y matrices, sin que esto se haya observado en reptiles (Reiner, 2012). Por lo que cabe la posibilidad que estas neuronas bicónicas se encuentren en regiones matriciales y estén mandando información entre parches estriatales como ocurre en mamíferos (Wilson, 2004). Por otro lado, dado la naturaleza y el plano de los cortes, existe la posibilidad de tener neuronas incompletas. Y en ese caso es posible que algunas de estas neuronas bicónicas pudieran ser artefactuales, sin embargo, ésta una variable que no es posible controlar, ya que los cortes que se realizaron en todos los casos fueron coronales, es posible que la arborización se vea influenciada por la orientación de los cortes en los diferentes planos anatómicos.

Por último, las células que muestran un patrón de arborización de un solo plano (planar), cuentan tal vez con una entrada y salida sináptica entre células de direcciones aleatorias ya que sus dendritas aunque escasas en comparación a las células con patrón de arborización estrellada pueden tener varias entradas sinápticas debido a su proyección dentro del cuerpo estriado.

Con esto se puede percibir que cada patrón de arborización podría tener un significado dentro de las conexiones sinápticas así como también en cada uno de los procesos que se llevan a cabo en el organismo, puesto que en mamífero los patrones son más variados, tal vez por ello pueden tener un mejor desempeño en relación al movimiento. Sin embargo en reptiles como la tortuga algunas vías involucradas en el control del movimiento están muy desarrolladas, por lo que es posible que los patrones de arborización estén orientados para favorecer estas vías (Reiner 2010).

No obstante, este solo es un inicio de una nueva e intrigante historia de la cual falta mucho por estudiar y descubrir dentro de la transición evolutiva de reptiles a mamíferos. Particularmente en relación a su estructura neuronal y la forma en que se establecen los circuitos sinápticos. Esto sugiere que los procesos que dan como resultado el movimiento en cada uno de los organismos están en función de los hábitats y los hábitos propios de cada organismo. Aquí, en el caso de la tortuga se trata de un organismo en el cual la columna vertebral es rígida y la transmisión del movimiento depende exclusivamente de los apéndices. En ese sentido sería muy interesante comparar las diferentes estirpes neuronales en el estriado de organismos con otros medios de locomoción, las serpientes por

ejemplo, donde la locomoción sufre una regresión pues es exclusivamente por movimientos de la columna vertebral como ocurre con peces y algunos anfibios.

La proporción de neuronas espinosas e interneuronas sería uno de los puntos más interesantes en la morfología comparada de las estirpes celulares en los ganglios basales entre mamíferos y grupos inferiores. Sin embargo, resultó similar a lo reportado para mamíferos, tomando como referencia a los distintos autores que han descrito la población de estas células en mamífero, particularmente, en gato, rata, ratón, mono y humano (Difiglia et al., 1976; Braak y Braak, 1982; Chang et al., 1982; Graveland et al., 1985a; Iwahori y Kiyota 1987; Levine, et al., 1986; Yenlink et al., 1991; Ávila-Costa, 2001], la proporción de NEM sobre interneuronas es mayor; como ya se ha mencionado anteriormente las espinosas medianas abarcan un 95/98% mientras que el resto son interneuronas. En este estudio resultó evidente que es necesario caracterizar la población de interneuronas, con métodos más específicos (inmunohistoquímica, por ejemplo), para poder cuantificar adecuadamente la proporción de éstas en el reptil.

Tomando en cuenta lo anteriormente expuesto del presente trabajo se pueden extraer las siguientes:

CONCLUSIONES

- Las neuronas espinosas medianas del estriado dorsolateral de la tortuga presentan en general características similares a las reportadas para mamíferos en relación al tamaño y forma predominando los somas, esféricos y ovoides.
- Las neuronas espinosas medianas de la tortuga presentaron patrones de arborización similares a los que se observan en mamíferos. Sin embargo la población neuronal no parece ajustarse a ninguno de ellos. Una de las características en la que las neuronas espinosas medianas de la tortuga difieren de lo observado en mamíferos es en la extensión del árbol dendrítico. Ya que resultó mayor en las neuronas de reptil que en las de mamífero.
- El axón de las neuronas espinosas medianas se origina en el mismo lugar que lo reportado para mamíferos ya sea de cualquier lado del soma o de la primera porción de la dendrita primaria.
- Observaciones preliminares sobre la proporción de neuronas espinosas medianas en relación a otras estirpes celulares en el estriado dorsolateral de la tortuga también mostraron ser similar a lo reportado para mamíferos.

Referencias

- 1.- Andreu, J.M., Dávila, J.C., Real, A., y Guirado, S. (1996). Multivariate statistical analysis of Golgi stained neurons. *Neurosc.Res.*24:215-226.
- 2.- 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 de Doctor en Ciencias Biología. Facultad de ciencias. México D. F.
- 3.- Balaban, C.D. (1978). Structure of anterior dorsal ventricular ridge in a turtle (*Pseudemys scripta elegans*).*J.Morphol.* pp.291-322.
- 4.- Bargas J., E. Galarraga y J. Aceves. (1998). Los GB. En: Fisiología, células, órganos y sistemas. Vol. 5 Cap X.13. Muñoz, E.J. y X. García (Eds.). FCE México. pp 257-273.
- 5.- Barral, J. Probllette, F. Mendoza, E. Pineda, J. Galarraga, E. y Bargas, J. 2001. High-affinity inhibition of glutamate release from corticostriatal synapses by ω -agatoxin TK.
- 6.- Barral J, Galarraga E, Tapia D, Flores-Barrera E, Reyes A, Bargas J (2010), Dopaminergic modulation of spiny neurons in the turtle striatum. *Cell Mol Neurobiol* 30:743-750.
- 7.- Benes FM, Paskevich PA, Davidson J, Domesick VB (1985), The effects of haloperidol on synaptic patterns in the rat striatum. *Brain Res* 329:265-274
- 8.- Bolam, J. P. (1995). Cholinergic, GABAergic, and glutamate-enriched inputs from the mesopontine tegmentum to the subthalamic nucleus in the rat. *J Neurosci.* pp.7105-20. Vol. 15.
- 9.- Braak, H. and Braak, E. (1982). Neuronal types in the striatum of man. *Cell Tissue Res* 227: 319-342.
- 10.- Brizzee KR, Samorajski T, Smith RC, Brizzee DL (1981), The effect of age and chronic neuroleptic drug treatment on cell populations in the neostriatum of Fischer 344 rats. In: *Brain neurotransmitters and receptors in aging and age related disorders.* (Enna S J, Samorajski T, Beer B, eds) Raven Press, pp 59-80. New York,
- 11.- Butler, B.A., Hodos, W. (2005). *Comparative Vertebrate Neuroanatomy: Evolution and adaptation.* 2^ª ed. Ed. Wiley - Interscience. USA. p. 369.
- 12.- Chang, H.T 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.
- 13.- Danner y Pfister. (1979). The structure of the neostriatum in the rat. *J Hirnforsch.*Vol.20. pp.285-301.
- 14.- DeFelipe, Fairen, A.(1993). A simple and reliable method for correlative light and electron microscopic studies. *J Histochem Cytochem.*pp. 769-772.
- 15.- DeFelipe, J. (1997). Types of neurons, synaptic connections and chemical characteristics of cells immunoreactive for calbindin-D28K, parvalbumin and calretinin in the neocortex. 1997. *J Chem Neuroanat.*Vol.14.pp. 1-19.
- 16.- DiFiglia M., P. Pasik and T. Pasik. (1976). A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res.* 114: 245-256.
- 17.- 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.
- 18.- Donkelaar HJT (1998). Reptiles. En: Central nervous system of vertebrates. Berlin. Springer-Verlag. (Eds), pp 1315-1524.

- 19.- Fabri, M. y Manzoni, T. (1996). Glutamate decarboxylase immunoreactivity in corticocortical projecting neurons of rat somatic sensory cortex. 1996. *Neuroscience*. pp.435-48.
- 20.- Fiala JC, Spacek J, Harris KM, (2008) Dendrite structure. En: *Dendrites* (Stuart G, Spruston N, eds). 2nd Ed: pp 1-34. Oxford University Press.
- 21.- Fox, C. A. Andrade, A. N. Hillman, D. E. Schwyn, R. C. (1971). The spiny neurons in the primate striatum: a Golgi and electron microscopic study. *J Hirnforsch*. pp.181-201.
- 22.- González, C. (2011). Forma y distribución de las espinas dendríticas en neuronas espinosas medianas del Paleostriatum Augmentatum de la tortuga. Tesis de Licenciatura Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. pp.62.
- 23.- Graveland, G.A. and Difiglia, M. (1985a). The frequency and distribution of medium-sized neurons with indented nuclei in the primate and rodent neostriatum. *Brain Research*, 327: 307-311.
- 24.- Graveland, G. A., Williams R. S and Difiglia, M. (1985b). A Golgi study of the human neostriatum: Neurons and afferent fibers. *The journal of comparative neurology* 234: 317-333.
- 25.- Graybiel, A.M. (1990). The basal ganglia and the initiation of the movement. *Rev. Neurol. (Paris)* 146:570-574.
- 26.- Iwahori, N., Kiyota, E. (1987). A Golgi study on the neuronal organization of the neostriatum in the mouse. *Neurosci. Res.* 4:454-474.
- 27.- Johnston JG, Gerfen CR, Haber SN, van der Kooy D (1990), Mechanisms of striatal pattern formation: conservation of mammalian compartmentalization. *Brain Res Dev Brain Res.* 57:93-102.
- 28.- Kawaguchi, Y. (1993). Physiological, Morphological and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat Neostriatum. *Neuroscience*. 13:4908-4923.
- 29.- Kawaguchi, Wilson, C.J. Augood, S.J. Emson, P. 1995. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci.* Vol.18. pp.527-535.
- 30.- Kemp, J.M. y Powell, T.P.S. (1971a). The Structure of the Caudate Nucleus of the Cat: Light and Electron Microscopy. *Phil Tras. R.Soc.B262*: 383-401.
- 31.- Kemp, J.M. y Powell, T.P.S. (1971b). The Termination of Fibres from the Cerebral Cortex and Thalamus upon Dendritic Spines in the Caudate Nucleus. En: *A Study with the Golgi Method.* *Phil Tras. R.Soc.B262*:429-439.
- 32.- 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, 1994.
- 33.- 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.
- 34.- Marín, O., W. Smeets y A. González (1998). Evolution of the basal ganglia in tetrapods. En: *A new perspective based on recent studies in amphibians.* *TINS* 21, 487-494.
- 35.- Medina, L, Reiner, A. (1995). Neurotransmitter organization and connectivity of the basal ganglia in vertebrates. En: *Implications for the evolution of basal ganglia.* *Brain Behav. Evol.* 46:235-258.
- 36.- Misgeld Ub; Y. Okada y R. Hassler. (1979). Locally evoked potentials in slices of rat neostriatum: A tool for the investigation of intrinsic excitatory processes. *Exo. Brain Res.* 34:575-590.
- 37.- Plenz D. Wickens JR (2010). The striatal skeleton: Medium spiny projection neurons and their lateral connections. En: Steiner H, Tseng KY (Eds). *Handbook of Basal Ganglia Structure and function.* Academic Press, NY. Pag 99-112.
- 38.- 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.

- 39.- Reiner. A. Medina. L., Leo, V.C. (1998). Structural and Functional evolution of the basal ganglia in vertebrates. *Brain Res. Rev.* 28:235.
- 40.- Reiner A (2012), The conservative evolution of the vertebrate basal ganglia. En: Steiner H, Tseng KY (Eds) (2010) *Handbook of Basal Ganglia Structure and function*. Academic Press, NY. Pag 29 - 64 pp.
- 41.- Sánchez Mejorada E, Sánchez-Mondragon G, Pineda JC, González M, Barral J (2009), N-type of calcium channels mediates a GABA_B presynaptic modulation of the corticostriatal synapses in turtle's paleostriatum augmentatum. *Synapse.* 63:855-862.
- 42.- Smeets W, Marin O. y González A. (2000). Evolution of the basal ganglia: new perspectives through a comparative approach. *J. Anat.* 196 (Pt 4):501-517.
- 43.- Striedter G. (2005) *Principles of brain evolution*. Sinauer Associates Inc. USA. pp.436.
- 44.- Vincent SR, Kimura H, McGeer E G. 1982. GABA-Transaminase in the Basal Ganglia: A Pharmacohistochemical Study. *Brain Research.* pp.93-104.
- 45.- Surmeier DJ, Carrillo-Reid L, Vargas J (2011) Dopaminergic modulation of striatal neurons, circuits, and assemblies. *Neuroscience.* 198: 3-18.
- 46.- Wilson, C. J. (2004). *Basal ganglia*. En: Sheperd. G. M. *The synaptic organization of the brain*. 5ª ed. Ed. Oxford University Press.
- 47.- 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.