



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**EVALUACIÓN LONGITUDINAL DE LOS CAMBIOS ESTRUCTURALES EN CEREBROS
CON LESIÓN NEONATAL EN EL HIPOCAMPO VENTRAL COMO MODELO ANIMAL
PARA ESQUIZOFRENIA.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

CARINA ALITZEL ELIZALDE MARTÍNEZ

DIRECTORA:

DRA. ALMA DELIA GENIS MENDOZA

ASESORA:

DRA. MARÍA TERESA CORONA ORTEGA

CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2019



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.

EL PRESENTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL LABORATORIO DE ENFERMEDADES PSIQUIÁTRICAS Y NEURODEGENERATIVAS DEL INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA DIRIGIDO POR LA DRA. ALMA DELIA GENIS MENDOZA Y ASESORADO POR LA DRA. MARÍA TERESA CORONA ORTEGA.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por apoyarme siempre, en las buenas y en las malas, sin ellos esta etapa de mi vida no podría ser concluida. Gracias por nunca dejarme sola en los momentos que parecía que no existía una salida, ustedes me enseñaron que aunque a veces parezca que ya no podemos siempre se puede seguir adelante.

A mi directora de tesis **doctora** Alma por aceptarme en su laboratorio, por creer en mi trabajo y sobre todo por la paciencia que tuvo conmigo.

A las doctoras Teresa Mendoza y Raquel Retana por su apoyo, paciencia y dedicación para que este  proyecto fuera posible.

A mi querida Universidad Nacional Autónoma de México por aceptarme para formar parte de su enorme familia y haberme acogido por tantos años, gracias por ayudarme a ser la persona que ahora soy.

DEDICATORIAS

A mi madre Elizenda y padre Rosalio este trabajo es lo que más me ha costado en mi trayectoria académica gracias por todo su apoyo.

A mi hermanita Karla que ha estado conmigo en las buenas y en las malas a pesar de todos los problemas que hemos tenido, que me ha demostrado que es una persona muy fuerte que logra lo que se propone y que de ella puedo aprender mucho, gracias hermana.

A mis abuelitos que ya no están y que no pudieron ver este trabajo terminado pero que sé que me apoyan desde donde se encuentren.

A mi abuelita Felisa que es el pilar de la familia, por fin verá este trabajo terminado muchas gracias abuelita por todo tu apoyo y por tus enseñanzas, te amo mucho.

A mis tías Male y Maru que siempre estuvieron al pendiente y me apoyan tanto en todo momento, gracias tías son las mejores del mundo.

A mis tíos José y Mateo por estar siempre que los necesité, me enseñaron que en la vida hay altas y bajas, pero siempre para adelante.

A Axel que siempre estuvo a mi lado, en las buenas y en las malas, para apoyarme y ayudar a terminar este trabajo, gracias por tu paciencia para así cerrar un ciclo más juntos, sin ti jamás hubiera terminado nada de esto, te amo.

ÍNDICE

Contenido

Abreviaturas	2
Introducción	3
Marco teórico.....	5
Planteamiento del problema	18
Hipótesis	20
Objetivo General.....	21
Material y métodos	22
Diseño experimental	24
Resultados.....	25
Discusión	36
Conclusiones.....	39
Referencias.	40
Anexos	44

Abreviaturas

3er V	Tercer ventrículo
4to V	Cuarto ventrículo
CA1	Campo CA1 de asta de Amón
CA3	Campo CA3 de asta de Amón
ERC	Corteza entorrinal
LNHV	Lesión Neonatal en el Hipocampo Ventral
MRI	Magnetic Resonance Imaging
NMDA	N-metil-D-aspartato
PBS	Phosphate Buffered Saline (solución salina amortiguadora de fosfatos)
PD	Días después de nacido
PHC	Corteza parahipocampal
PRC	Corteza perirrural
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
VL	Ventrículo lateral

Introducción

La esquizofrenia es un trastorno mental grave que afecta a más de 21 millones de personas en el mundo¹, cuenta con etiología multifactorial porque comprende todo un abanico de disfunciones cognitivas, conductuales y emocionales². Dicha enfermedad surge de una combinación de factores genéticos, de desarrollo y ambientales³.

El estudio de la esquizofrenia resulta complejo, ya que no se ha podido atribuir a ninguna causa específica que explique el padecimiento, por lo que para su estudio se han implementado modelos animales que se dividen en tres categorías: farmacológicos, genéticos y de neurodesarrollo⁴. Los modelos farmacológicos consisten generalmente en utilizar drogas que son factibles para inducción de cuadros psicóticos en individuos sanos. En los modelos genéticos se simula la enfermedad mediante la manipulación de genes relacionados con sistemas de neurotransmisión. Por último con respecto a los modelos de neurodesarrollo los síntomas son inducidos por una lesión física y también por factores ambientales durante el mismo neurodesarrollo⁴.

Ninguno de los modelos animales es perfecto, ya que no reflejan el cuadro clínico completo observado en los seres humanos⁵. Pero existen modelos que cuentan con varias características de la enfermedad, tal es el caso de la lesión neonatal en hipocampo ventral (LNHV), en donde se induce una pequeña lesión excitotóxica en el hipocampo del cerebro de ratas neonatas (7 días después de nacidas) lo que da oportunidad a su posterior maduración, esta edad es comparable al desarrollo fetal del segundo al tercer trimestre de los humanos, se inspiró en un intento de capturar aspectos prominentes de la esquizofrenia sin abordar los modelos farmacológicos. El modelo desencadena una serie de cambios conductuales, moleculares y fisiológicos sobre la esquizofrenia que surgen en un momento particular de desarrollo en la adolescencia³. La LNHV se monitorea mediante varias técnicas, una de ellas es la resonancia magnética, la cual resulta muy útil, debido a que es un estudio de mapeo cerebral no invasivo⁶. Ha surgido evidencia

en imágenes del cerebro de pacientes con esquizofrenia que muestran la dilatación de ventrículos laterales y cambios en el hipocampo³, por lo que la LNHV monitoreada desde su inicio proporcionaría información adicional sobre las modificaciones estructurales del cerebro lesionado durante el crecimiento del roedor.

Marco teórico

Esquizofrenia

La esquizofrenia es una enfermedad que afecta a más de 21 millones de personas en el mundo⁷. En México, un millón 100 mil personas padecen esquizofrenia, por lo cual ocupa el quinto lugar en la lista de padecimientos de mayor discapacidad⁸. Es un trastorno con síntomas que resulta difícil describir en forma general, es más fácil identificar conductas de personas con esquizofrenia que definir en si la enfermedad⁹, debido a esto más del 50% de las personas con esquizofrenia no están recibiendo la atención adecuada¹.

La enfermedad inicia entre los 15 y 30 años de edad. Afecta a todo tipo de personas, independientemente del sexo, raza, ambiente cultural, o clase social⁷.

Los estudios epidemiológicos han establecido que numerosos factores confieren riesgo de esquizofrenia (Fig.1). Muchos de éstos actúan durante el período temprano del desarrollo cerebral.

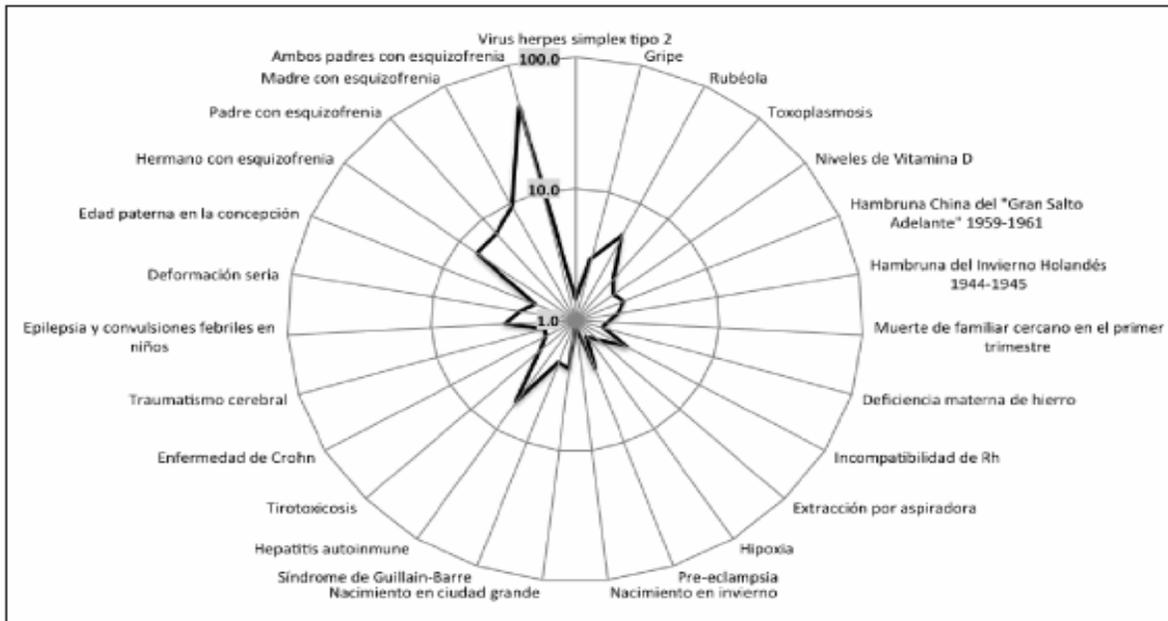


Fig. 1. Factores de riesgo de la esquizofrenia. Tomado de Gejman et al. (2012)

La mayoría de los factores de riesgo ambientales actúan durante el embarazo o el parto. Pero no son los únicos factores de riesgo, también existe el riesgo genético, por ejemplo, cuando vemos el grado elevado de psicosis en hijos adoptados de padres con esquizofrenia, es fundamental porque indica un mecanismo específico de transmisión genética¹¹.

Con respecto a la etiología existen varias hipótesis, pero entre las más aceptadas se encuentran: la hipótesis dopaminérgica y la hipótesis del neurodesarrollo.

Hipótesis dopaminérgica. Hipótesis neuroquímica que se fundamenta en la eficacia antipsicótica dependiente del bloqueo del receptor de dopamina, y en la estimulación de la transmisión de dopamina (por ejemplo con psicoestimulantes) que pueden generar síntomas psicóticos. Esta hipótesis sugiere que los cerebros de personas que padecen esquizofrenia liberan más dopamina en los circuitos mesolímbicos³.

Hipótesis del neurodesarrollo. La hipótesis del neurodesarrollo postula que, al menos una parte de las personas con esquizofrenia tendrían un trastorno como resultado de una alteración producida durante el periodo del neurodesarrollo y cuyo origen sería genético, ambiental o por una combinación de ambos. Dicha lesión temprana interactuaría con el proceso de maduración normal del cerebro sobre todo en áreas corticales relacionadas con la respuesta a situaciones de estrés en el adulto, lo cual daría lugar a la aparición de los síntomas tras un pequeño periodo silente en la adolescencia tardía y en los adultos jóvenes. Este modelo postula que una predisposición genética aunada a agentes ambientales tempranos (infecciones virales y procesos inmunológicos entre otros) produciendo alteraciones en el neurodesarrollo, que llevaría a un control cortical deficiente de la actividad dopaminérgica subcortical y el estrés, lo que produciría desensibilización del sistema, produciendo lo que nosotros conocemos como episodio psicótico.

Emil Kraepelin mostró el hallazgo de la pérdida de neuronas corticales en la demencia prematura con fotomicrografías en las ediciones posteriores de su libro de psiquiatría¹². Funcionalmente los pacientes con esquizofrenia presentan déficits

cognitivos principalmente en atención, memoria y funciones ejecutivas involucrando a las cortezas frontal y temporal; esto es interpretado en neuropsicología como un desajuste de la conectividad funcional intracortical que conceptualmente es esperado si se tiene un problema del desarrollo que provoque un defecto en la arquitectura y por tanto en la funcionalidad del cerebro. Los cambios estructurales del hipocampo son ahora uno de los hallazgos más consistentes en toda la literatura de investigación de la esquizofrenia, mientras que otro grupo de investigación ha proporcionado evidencia, en donde el papel del hipocampo es muy importante en la generación de síntomas psicóticos y déficits cognitivos ^{13,14}.

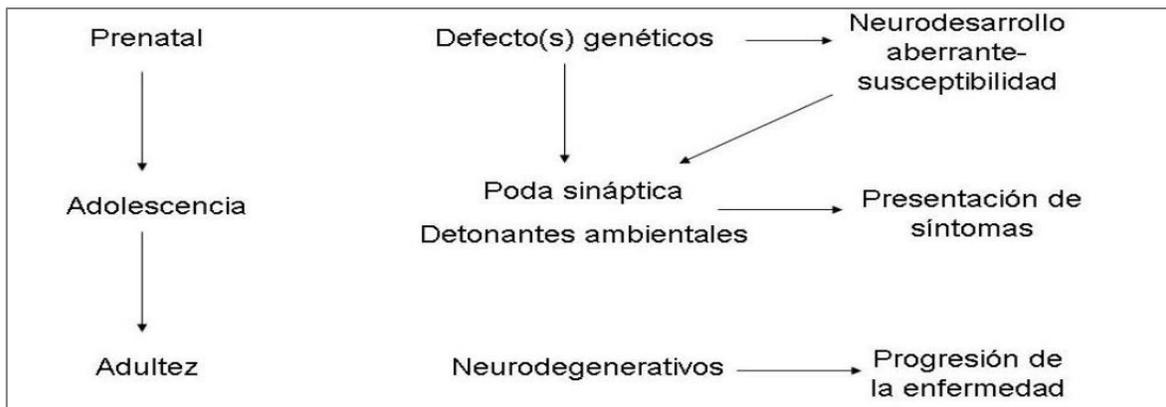


Fig. 2. Hipótesis de la patogénesis de la esquizofrenia. Se propone que la esquizofrenia es un desorden progresivo a lo largo de la vida con los componentes del neurodesarrollo y neurodegeneración. La columna de la izquierda indica la etapa de desarrollo en la que se propone suceden ciertos cambios señalados en la columna de en medio, los cuales traen consecuencias señaladas en la columna de la derecha. Tomado de Ashe et al. (2001)

Sistema límbico

El sistema límbico se encuentra en el borde del encéfalo, entre las partes más antiguas del encéfalo y los hemisferios, tiene forma de dona, está muy relacionada con las emociones y los sentimientos; también se asocia con funciones de memoria y aprendizaje, y con el sentido del olfato y del gusto, está conectado en forma bidireccional con la corteza prefrontal. Las principales estructuras del sistema límbico incluyen la amígdala, el fórnix, la corteza cingulada, el septum y el hipocampo¹⁵ (véase Fig. 3).

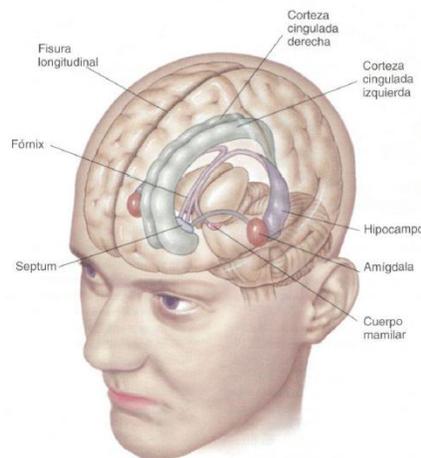


Fig. 3. Principales estructuras del sistema límbico: amígdala, hipocampo, corteza cingulada, fórnix, septum y cuerpo mamilar. Tomado de Pinel (2001).

Cumple tres funciones básicas en el organismo:

- **Mnemónicas:** se relacionarán, sobre todo con la memoria reciente. El complejo polisináptico, que se encarga de fijar la memoria, irá desde la corteza entorrínica, pasando por las células granulosas del giro dentado, CA3 y, luego, CA1, subículo y albens, hasta el fórnix.
- **Motivacionales:** Centro de motivaciones para la memorización, tendrá funciones tanto fisiológicas como meramente mnemónicas.

- Conductuales: en relación con una estimulación o una lesión del hipocampo, presentará reacciones de defensa, ataque y furia, además de respuestas viscerales de diferente tipo¹⁶.

Las sustancias adictivas producen sus efectos a través de acciones en el componente límbico de los ganglios basales, un circuito de núcleos que son responsables para la influencia motivacional, emocional, contextual, afectiva e información sobre la conducta (Fig. 4). Los núcleos límbicos incluyen a la amígdala, hipocampo y la corteza medial prefrontal, la cual envía la mayor cantidad de proyecciones al núcleo accumbens, el cual, se subdivide en subregiones límbicas y motoras conocidos como coraza (*shell*) y núcleo (*core*), respectivamente. El núcleo accumbens tiene dos principales salidas que son: una proyección directa GABAérgica al pálido ventral y otra a las terminales axónicas del área ventral tegmental (AVT). El pálido ventral envía eferencias GABAérgicas al tálamo medio dorsal, las proyecciones glutamatérgicas del tálamo medio dorsal a la corteza media prefrontal (CmPF) terminando en éste el circuito límbico.

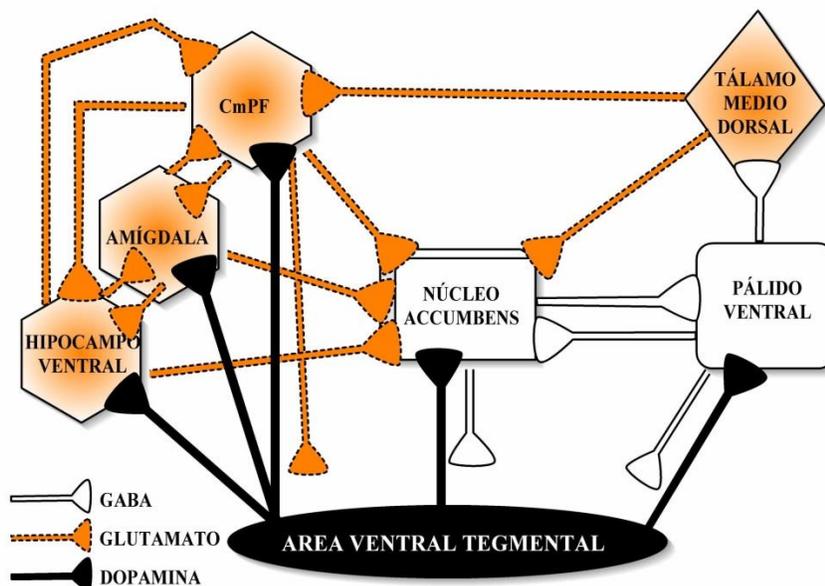


Fig. 4 Representación de la interconectividad existente entre estructuras del sistema límbico (CmPF: corteza media prefrontal). Tomado de Camacho (2010).

Hipocampo

El hipocampo humano recibe información sensorial multimodal altamente procesada a través de dos entradas de la corteza entorrinal (ERC), compara las dos entradas y devuelve información a varias áreas corticales. Este patrón de conectividad es crucial para al menos dos funciones cerebrales que se consideran anormales en la esquizofrenia, es decir, la memoria y la regulación del afecto. En este sentido, revisamos las anomalías de la estructura y función del hipocampo en la esquizofrenia, por lo que consideramos que anomalías estructurales en este dan lugar a déficits de memoria y síntomas psicóticos. A pesar de que el hipocampo no sea la única estructura cerebral asociada a la patología en la esquizofrenia, su volumen y forma son anormales tempranamente y en el proceso de la enfermedad, regiones específicas muestran alteraciones en la expresión génica neuronal y en el número de células, además de mostrar alteración en la cognición vinculados a anomalías de su función¹⁷.

La evidencia inicial de las anomalías del hipocampo en la esquizofrenia procedía de estudios post mortem y de imágenes estructurales. Un estudio que exploró los cambios en la región límbica del cerebro obtuvo información de que el hipocampo es 40% más pequeño en los pacientes con esquizofrenia en comparación con los sujetos control. Recientes análisis y revisiones han concluido que el volumen hipocampal es más pequeño, (en promedio alrededor del 5%), en relación a los participantes sin este trastorno.¹⁷.

Una característica importante de los estudios estructurales mediante neuroimagen, es la capacidad de estudiar el volumen del hipocampo en el inicio y durante el curso de la enfermedad. Tales estudios han proporcionado pruebas claras de que el tamaño del hipocampo es más pequeño en los pacientes con esquizofrenia al comienzo de la enfermedad (primer episodio psicosis). Por lo que es improbable que la disminución del volumen del hipocampo sea simplemente un efecto del tratamiento o enfermedad a largo plazo. Varios investigadores han utilizado imagen por resonancia magnética (MRI por sus siglas en inglés) estructural para

estudiar los cambios regionales selectivos del volumen y forma del hipocampo. En el contexto de las distintas conexiones aferentes y eferentes y la evidencia de una segregación funcional de la formación del hipocampo anterior y posterior, este hallazgo podría indicar que algunas funciones del hipocampo están alteradas en la esquizofrenia. Se ha visto que el hipocampo no es la única región del cerebro con las dimensiones alteradas en la esquizofrenia. Adicionalmente se han visto regiones del cerebro que están estrechamente conectadas con el hipocampo (es decir, amígdala, ERC, corteza perirrural (PRC) y corteza parahipocampal (PHC)) parecen estar afectadas de manera similar en la esquizofrenia¹⁷.

Estudios del hipocampo ayudarán a diagnosticar la esquizofrenia y tendrán poder predictivo para la progresión y el resultado de la enfermedad. Información adicional sobre los componentes químicos del hipocampo, por ejemplo, los medidos por espectroscopia de protones, podría ayudar a aclarar el proceso patológico subyacente. Sin embargo, ahora está claro que un análisis más detallado del hipocampo a nivel organización celular y mecanismos moleculares es necesario para apreciar plenamente un papel potencial del hipocampo en la esquizofrenia.

Ventrículos

El sistema ventricular es un conjunto de cavidades comunicantes dentro del cerebro. Estas estructuras son responsables de la producción, el transporte y la eliminación del líquido cefalorraquídeo, que baña el sistema nervoso central.

Los ventrículos son estructuras que producen líquido cefalorraquídeo y lo transportan alrededor de la cavidad craneal. Están revestidos por células endoteliales que forman una estructura llamada plexo coroideo. Es en el plexo coroideo donde se produce el líquido cefalorraquídeo.

Embriológicamente, el sistema ventricular se deriva de la luz del tubo neural. Este sistema está formado por cuatro ventrículos más un conducto a lo largo de la médula espinal.

Los cuatro ventrículos son: ventrículos laterales, tercer ventrículo, cuarto ventrículo, canal medular.

Uno de los hallazgos más consistentes en la esquizofrenia es el aumento del tamaño de los ventrículos laterales en comparación con controles sanos o individuos con trastorno afectivo ¹⁷

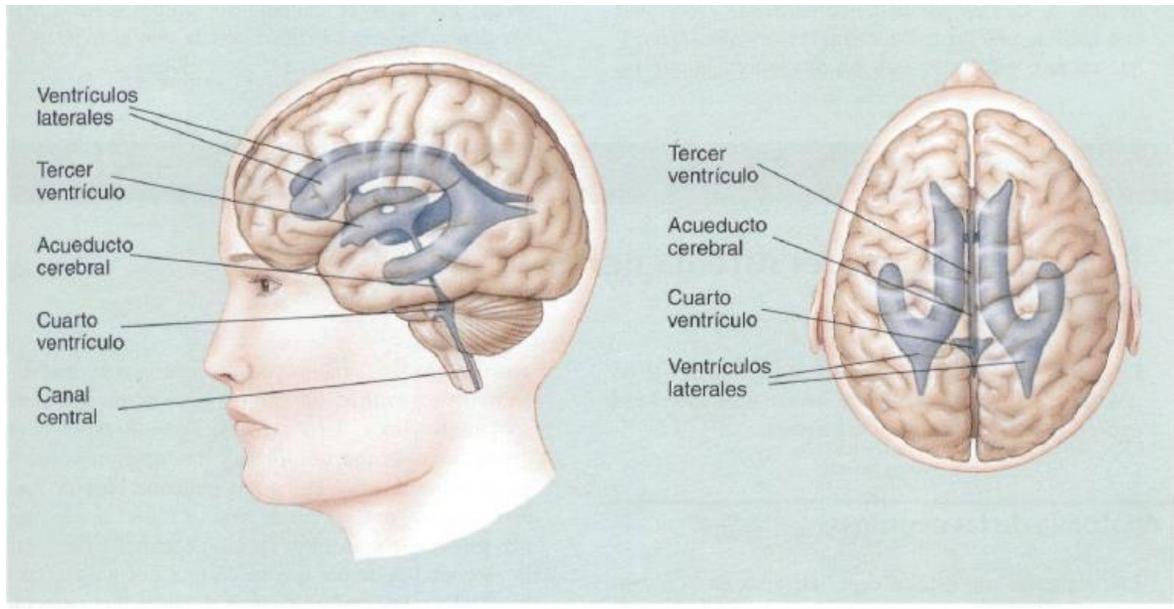


Fig. 5 Representación de los ventrículos en humanos. Tomado de Pinel (2001).

Lesión en el hipocampo ventral

Alrededor de 50 modelos animales de esquizofrenia han sido descritos durante los últimos 30 años. Cada uno de estos modelos tiene sus ventajas y limitaciones, y difieren en el aspecto en que enfocan la enfermedad.

El modelo animal de Lesión Neonatal del Hipocampo Ventral (LNHV). Es un modelo concebido por Lipska, Weinberger y colaboradores en los noventa, se inspiró en un intento de capturar los aspectos más importantes de la esquizofrenia no abordados por los modelos farmacológicos³. Los animales presentan después de la pubertad anomalías neuroquímicas y de comportamiento análogo a algunos de los síntomas observados en este padecimiento¹⁸ (Fig. 3).

La LNHV en ratas se ha propuesto como un modelo animal putativo para esquizofrenia, debido a que estos animales presentan después de la pubertad anomalías neuroquímicas y de comportamiento análogo a algunos de los síntomas observados en este padecimiento.

La lesión se hace por medio de una microinyección de ácido iboténico en el hipocampo ventral de ratas ya que corresponde al hipocampo anterior en humanos con 7 días de nacidas ¹⁹(Fig.4). El sistema límbico, tanto en ratas como en humanos, controla los instintos, la alimentación, la lucha, la huida y el comportamiento sexual. Toda la configuración del cerebro es casi idéntica. Y ambos usan los mismos neurotransmisores y receptores, las mismas proteínas para la liberación y el reciclaje de vesículas sinápticas y mecanismos de señalización similares³², en la Fig. 5 se presentan las principales partes del cerebro humano y de rata.

El ácido iboténico ha mostrado actuar como un potente neuroexcitante, se une a los receptores postsinápticos N-metil-D-aspartato NMDA localizados en las dendritas de la neurona, permitiendo al Ca^{+2} acceder al entorno intracelular, cuya entrada excesiva de lleva finalmente a la muerte de la neurona. Los axones no poseen receptores excitadores y por consiguiente no es vulnerable al efecto del ácido iboténico³⁹.

El modelo de lesión de hipocampo ventral con ácido iboténico es de interés particular porque incorpora muchas características de la esquizofrenia, esta región es un blanco primario en la histopatología del hipocampo encontrada en pacientes con esquizofrenia, ya que se encuentra inervado por el estriado, el cual, está involucrado en la regulación subcortical de la liberación de DA. La LHV incrementa la conducta motora ante ambiente nuevo y los niveles de DA³ el cual es consistente con la hipótesis dopaminérgica de la esquizofrenia.

El efecto de la LNHV depende de forma crítica del momento de la lesión. Cuando se realizan el día 7 después del nacimiento (PD 7) que es comparable con el 2° y 3° trimestre en el humano (Fig. 6), los cambios de comportamiento son

pronunciados y aparecen con un retraso en el desarrollo, mientras que las lesiones realizadas más tarde (p. ej., PD 14, 21 y en la edad adulta) no muestran un perfil retrasado de los cambios cualitativamente diferente.

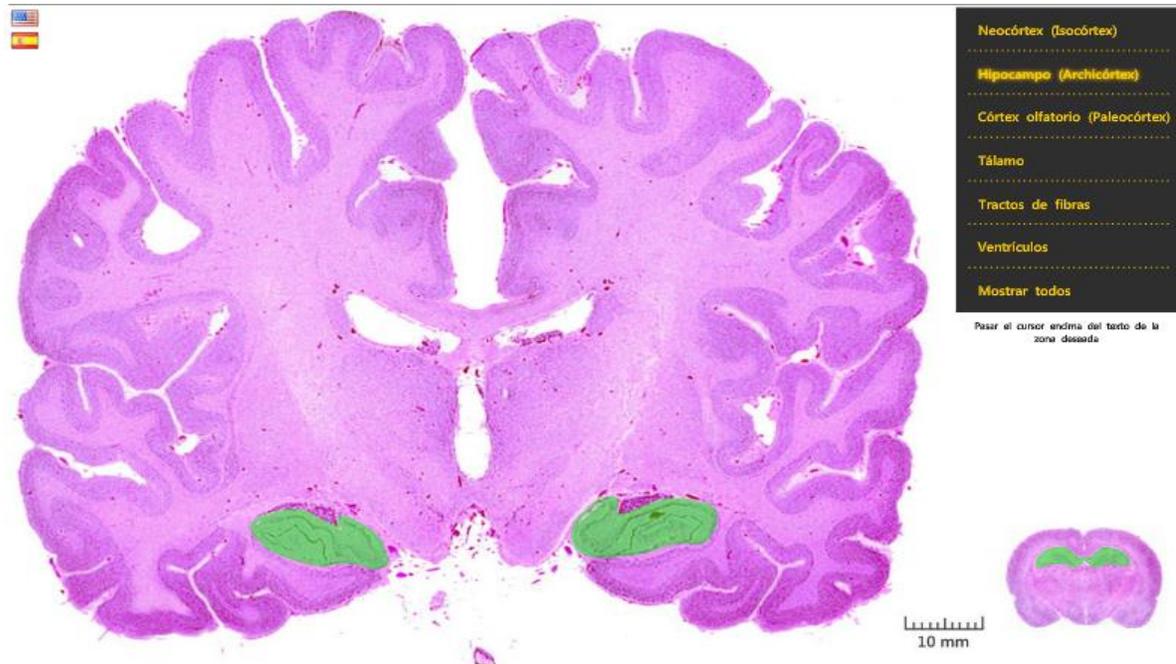


Fig. 6 Este esquema muestra resaltada de color verde el hipocampo en el cerebro humano del lado izquierdo y en el cerebro de rata del lado derecho.

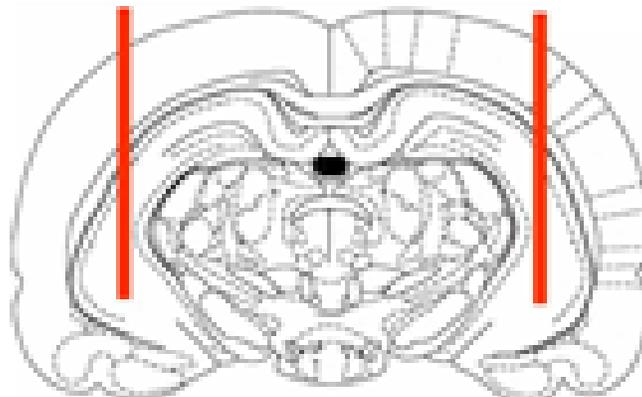


Fig. 7 Imagen representando el lugar en donde se realiza la cirugía bilateral del hipocampo ventral

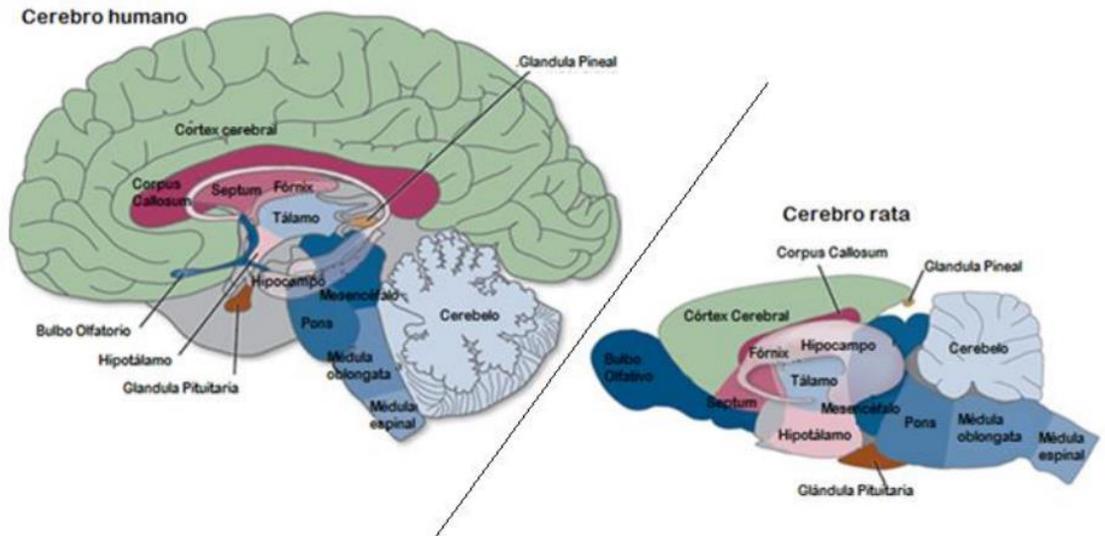


Fig. 8. Esquema de cerebro de humano y cerebro de rata con las partes más importantes de cada uno de ellos (Animal Models for Addiction Research, 2016).
Figura editada al español.

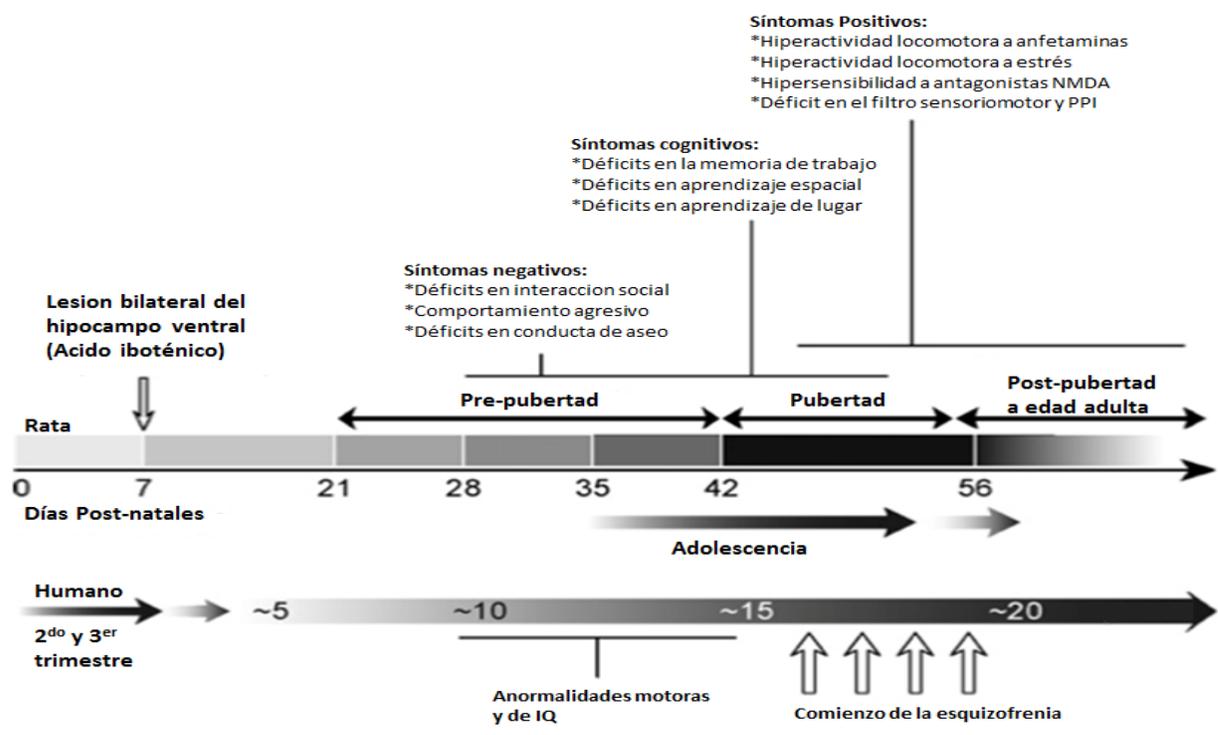


Fig. 9. Línea del tiempo de la aparición de los cambios de comportamiento en LNHV. Modificado de Sandner (2010).

Resonancia magnética

La resonancia magnética es una técnica diagnóstica que a diferencia de la tomografía computarizada y de angiografía, no utiliza radiaciones ionizantes. Significa obtener imágenes por resonancia magnética de una colección de núcleos de átomos con propiedades magnéticas distribuidos en varios niveles de energía definidos por la orientación de sus momentos magnéticos con respecto a un campo magnético externo ³⁴. En el procedimiento después de alcanzar el llamado equilibrio térmico, los núcleos son irradiados por un segundo campo de radiofrecuencia débil. Los núcleos excitados devuelven su exceso de energía y vuelven a niveles de energía bajos mediante dos procesos de relajación, ya sea por interacción con el entorno (red) o intercambiando energía con núcleos vecinos a niveles de energía más bajos. El primer proceso se denomina relajación spin-lattice y se caracteriza por una constante de tiempo, el tiempo de relajación de spin-lattice (T1), mientras que el último proceso, la relajación de spin-spin, se describe por una constante de tiempo, la relajación de spin-spin tiempo (T2). La escala de tiempo de los núcleos relajantes depende en gran medida del peso molecular y el estado físico (líquido o sólido) del compuesto y, por lo tanto, es fundamental para cada aplicación de RMN ³⁵. Un volumen de tejido del organismo posee una densidad específica a partir de dichos núcleos, así el agua tendrá una densidad diferente a la sangre, al hueso y al parénquima de cada músculo o víscera²⁰. Cada uno de estos compartimentos o tejidos se llamarán voxels. Cuando los núcleos de hidrógeno de un determinado voxel son expuestos a un campo magnético, absorben energía de radiofrecuencia y entran en resonancia. Cada voxel resonará según la secuencia de pulso al que sea expuesto²¹ y como se había mencionado pasará al proceso de relajación. Durante ésta se induce una señal eléctrica en una antena receptora, que envía información a la computadora para obtener la imagen tomográfica de resonancia magnética. La imagen resultante está condicionada por dos factores: los tisulares, específicos del tejido estudiado y los operacionales, dependientes del equipo, que son parámetros variables que se adecuan por conseguir la mayor información en el menor tiempo posible, según la afección sospechada y la experiencia de neurorradiólogo²².

Esta técnica presenta gran utilidad en el diagnóstico de múltiples enfermedades neurológicas, como son los procesos expansivos intracraneales y las afecciones desmielinizantes, inflamatorias y cerebrovasculares, entre otras²³ debido a que en casi todos los tejidos alterados que presentan pérdida neuronal, cavitaciones y gliosis. Incluso con tiempos de imagen prolongados, la RM demostró detalles anatómicos mejorados, mejor sensibilidad para las lesiones de la sustancia blanca y anomalías detectadas sistemáticamente que no es posible identificar en la ecografía prenatal.

Técnicas más avanzadas de imagen como la espectroscopia de resonancia magnética (MRS), imágenes de tensor de difusión (DTI), imágenes de perfusión, imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI) e imágenes ponderadas de susceptibilidad (SWI), combinadas con las mayores intensidades de campo magnético estático clínicamente aplicables han brindado nuevos conocimientos sobre el desarrollo cerebral y una mayor sensibilidad para una variedad más amplia de patologías en el cerebro en desarrollo³⁶.

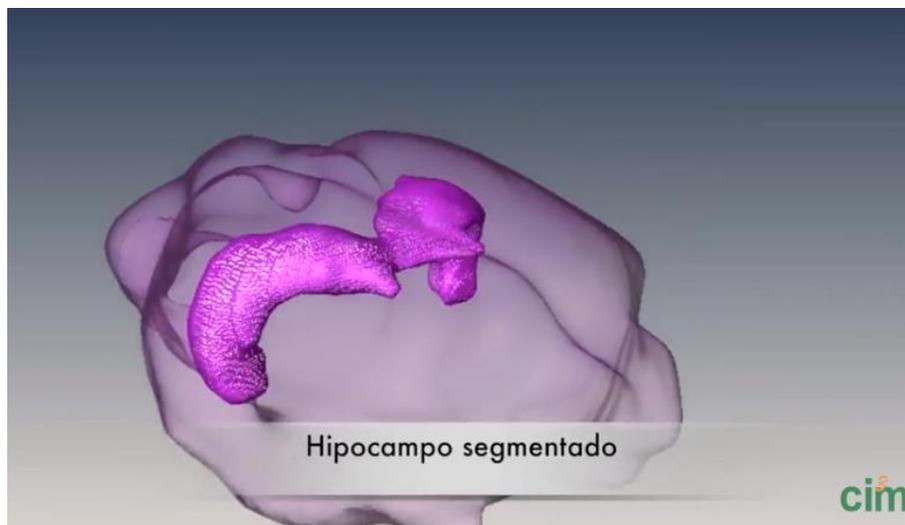


Fig. 10. Hipocampo de rata Wistar segmentado a partir de resonancia magnética nuclear. Estudio realizado con un resonador de 7 Teslas y segmentado con el software Amira 5.3.3

Planteamiento del problema

La esquizofrenia es una de las enfermedades mentales más importantes a nivel mundial debido a su inicio a temprana edad y su tendencia a persistir de manera crónica y en muchos casos en niveles significativos de gravedad⁴. A pesar de su importancia no se ha llegado a concluir una causa específica que la produzca pero se han propuesto varias hipótesis por lo que se llegó a la conclusión de que es una enfermedad multifactorial.

El diagnóstico de esquizofrenia es difícil ya que los síntomas se presentan a diferentes edades lo que provoca que sea confundida con otras enfermedades mentales, y al momento de llegar a diagnosticarla se encuentre en una etapa más avanzada. Debido a esto existen modelos animales como la lesión neonatal en el hipocampo ventral en ratas que ayudan a la investigación para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad, este modelo es de los más aceptados para su estudio debido a que se presentan los síntomas positivos y negativos de la enfermedad.

La esquizofrenia tiene un inicio característico durante la adolescencia o la edad adulta temprana, pero como se mencionó anteriormente tiende a persistir durante toda la vida. Los estudios de resonancia magnética estructural indican que las anomalías cerebrales están presentes al inicio, pero los estudios longitudinales para evaluar la neuroprogresión y cambios morfológicos se han visto limitados por muestras pequeñas e intervalos de seguimiento cortos o poco frecuentes³⁷.

Con el presente trabajo se pueden determinar los cambios morfológicos en los cerebros (hipocampo y ventrículos) de las ratas lesionadas en el hipocampo ventral a diferentes edades, sin administrar ningún tipo de fármaco para su recuperación y con una técnica no invasiva, lo que dará un amplio panorama de la evolución de la lesión pudiendo así analizar su tamaño, la existencia de cavitación y/o gliosis. Esto ayudará a entender cómo son los cambios estructurales en el hipocampo ventral y en los ventrículos en ratas neonatas con respecto a las adultas, así más adelante poder comparar con ratas a las cuales

que se les administre un fármaco y realizar estudios acerca de cómo influye en la morfología cerebral y compararla con los síntomas característicos de la esquizofrenia, y con esto poder determinar con precisión las edades a las que se presentan determinados síntomas debido a los cambios morfológicos en el cerebro con una técnica no invasiva ayudando a un diagnóstico certero y temprano para dar un tratamiento oportuno a los pacientes que padecen dicha enfermedad.

Hipótesis

Se sabe que la neurotoxina (ácido iboténico) produce pérdida de tejido neuronal cuando es inyectada en el hipocampo, en consecuencia, la lesión aumentará de volumen causando una reducción en el del hipocampo ventral, que se verá compensado con el aumento de tamaño de los ventrículos laterales. También se ha demostrado que conforme se da la maduración cerebral existe una reorganización de circuitos neuronales, de modo que habrá una disminución de neuronas débiles del hipocampo; así se espera que el mayor incremento de la lesión se dé a una edad temprana.

Objetivo General

- Evaluar los cambios estructurales en cerebros de ratas Wistar con lesión neonatal en el hipocampo ventral a los 8, 48, 69, 96 y 120 días de nacidas.

Objetivos Particulares

- Determinar el tamaño de la lesión provocada por ácido iboténico en las diferentes áreas afectadas (hipocampo, tercer ventrículo y ventrículos laterales a diferentes edades).
- Demostrar el periodo de vida en el que se presenta el mayor crecimiento de la lesión en hipocampo y la medición de los ventrículos ventral y lateral.

Material y métodos

Material

Las ratas Wistar utilizadas para llevar a cabo el estudio fueron sometidas a una cirugía para realizar la lesión neonatal en el hipocampo ventral, la técnica utilizada se describe en el *Anexo 1*.

Material biológico

- 8 ratas Wistar macho de 7 días de nacidas (PD7) con lesión neonatal en el hipocampo ventral con ácido iboténico.
- 8 ratas Wistar macho de 7 días de nacidas (PD7) con lesión neonatal en el hipocampo ventral con solución amortiguadora de fosfatos (por sus siglas en inglés PBS) como grupo control.

Monitoreo de la lesión

Equipo

- MRI 7 Teslas Varian para animales pequeños.

Software

- Amira 5.3.3

Técnicas

Resonancia magnética nuclear

El monitoreo de la lesión de ambos grupos de ratas se realizó mediante resonancia magnética nuclear (RMN) en un escáner VARIAN de 7 Teslas (equipado con una antena de gradientes Agilent 205/120 HD Gradient Coil) en el Centro Nacional de Investigación de Imagenología e Instrumentación Médica (CI3M), UAM-I, el monitoreo se realizó longitudinalmente a las ratas los días PD8, PD48, PD69, PD96 y PD120.

Las ratas lesionadas fueron colocadas en el resonador, que mediante un campo magnético y las antenas ubicadas alrededor del paciente generan un pulso de ondas de radio. Los protones en la rata absorben las ondas de radio y reemiten de forma subsistente esta energía de onda, después de un período de tiempo. Las ondas de radio emitidas por los protones son detectadas por las antenas que lo rodean. Al cambiar ligeramente la fuerza del campo magnético en función de la posición la frecuencia de resonancia de protones varía, ya que la frecuencia es propicia a la intensidad del campo magnético. El sistema de RM utiliza la frecuencia y la fase de las ondas de radio que regresan para determinar la posición de cada señal de la rata, todo este conjunto de propiedades del tejido produjeron un conjunto de imágenes tomográficas que representaron cortes a través del cerebro de la rata.

Interpretación de resonancia magnética nuclear

Se realizó la segmentación de las imágenes de resonancia magnética con ayuda del software Amira 5.3.3 para determinar las medidas de la lesión, hipocampo, tercer ventrículo y ventrículos laterales.

A partir de la serie de imágenes obtenidas en el proceso de RMN se realizó un procesamiento digital con ayuda del software Amira 5.3.3 mediante el cual se seleccionaron uno por uno los voxels que pertenecen al hipocampo, ventrículos y resto del cerebro, se les asignó un color y se separaron, a esto se le conoce como segmentación que permitió trabajar las partes de manera separada para así medir y reconstruir la imagen en tercera dimensión para un mejor análisis estructural.

Diseño experimental

Tipo de estudio

Experimental. Descriptivo. Retrospectivo con seguimiento. Longitudinal. Estudio experimental aleatorio controlado.

Población objetivo

Imágenes segmentadas de cerebros de rata.

Población a estudiar

Imágenes de cerebros de rata.

- *Criterios de inclusión:* Imágenes de cerebros con LNHV de ratas que vivieron 139 días.
- *Criterios de exclusión:* Imágenes de cerebros de ratas que vivieron menos de 139 días.
- *Criterios de eliminación:* Imágenes de cerebros de ratas mal tomadas.

Variables

Independientes

Tiempo del estudio.

Acción del ácido iboténico.

Dependientes

Medidas del cerebro, hipocampo y ventrículos.

Resultados

Volúmenes de las diferentes partes segmentadas del cerebro de ratas con LNHV.

Con la finalidad de hacer la comparación de las diferentes medidas de cerebro, cuarto ventrículo (4to V), tercer ventrículo (3er V), hipocampo, ventrículos laterales (VL derecho e izquierdo) y lesión determinadas mediante el Software Amira 5.3.3, se hizo una tabla que contiene tanto las medidas de las ratas lesionadas con ácido iboténico (Ái) como las ratas control lesionadas con PBS (PBS) (Tabla1).

Tabla 1. Volúmenes de las diferentes partes segmentadas del cerebro de ratas con LNHV

		PD8	PD27	PD48	PD69	PD96	PD120	PD139
Cerebro	Ái	1375.07	1325.18	1718.15	1719.01	1724.41	1736.28	1744.98
	PBS	1461.86	1473.66	1626.59	1645.57	1696.35	1657.51	1688.03
4to V	Ái	2.19	2.53	3.56	6.79	6.8	4.81	6.06
	PBS	1.45	1.48	2.64	3.56	5.87	6.06	6.92
3er V	Ái	2.41	1.54	9.43	10.02	11.67	10.81	6.92
	PBS	1.91	2.14	2.31	2.83	3.16	5.67	5.73
Hipocampo Derecho	Ái	33.68	28.8	31.84	38.43	39.68	37.24	38.89
	PBS	15.93	25.73	29.99	31.42	37.05	37.18	42.19
Hipocampo Izquierdo	Ái	29.45	26.98	32.04	39.81	39.29	36.91	40.08
	PBS	17.19	25.24	25.38	30.98	37.9	40.21	43.24
VL Derecho	Ái	9.6	2.58	7.71	3.03	3.36	6.92	9.03
	PBS	0.55	0.88	1.71	2.24	2.97	3.56	3.69
VL Izquierdo	Ái	12.77	2.63	6.86	3.49	7.58	6.79	10.42
	PBS	0.66	1.04	2.5	2.86	3.16	3.23	3.76
Lesión Derecha	Ái	0	0.77	0.46	3.1	3.56	1.91	0.99
	PBS	0	0	0	0	0	0	0
Lesión Izquierda	Ái	0.66	1.38	0.73	3.1	4.48	1.78	0.99
	PBS	0	0	0	0	0	0	0

Los resultados mostraron que el volumen de los ventrículos laterales es mayor en Ai que en PBS en las 7 sesiones y en ambos hemisferios (para un mejor análisis las partes a tratar se dividieron en hemisferio derecho e izquierdo). En cuanto al hipocampo el volumen es mayor en Ai que en PBS a lo largo de las siete sesiones, pero se observa un decremento de volumen en el PD27 y después un aumento a lo largo de las sesiones restantes.

El volumen de la lesión presenta un incremento hasta el PD96 pero en el PD120 decrece el volumen y en el PD39 se tiene un volumen casi igual que al inicio el PD8. El tercer y cuarto ventrículo también presentan, al igual que el volumen de la lesión, un incremento hasta el PD96, en el PD120 decrece y en el PD 139 llegan hasta una medida menor que el PD96. La medida del cerebro total presenta un volumen ligeramente mayor en las Ai con respecto a las PBS en los PD48, 69, 96, 120 y 139, en cuanto al principio del estudio los PD8 y 27 se presentan un volumen ligeramente menor en Ai que en PBS.

Imágenes segmentadas

Para poder determinar las diferentes medidas presentadas en la Tabla 1 fue necesario segmentar las imágenes obtenidas en las sesiones de RMN mediante el Software Amira 5.3.3, las partes segmentadas que se presentan en la Figura 1 fueron el tercer y cuarto ventrículo, hipocampo, lesión y los ventrículos laterales. Para hacer una determinación del volumen total del cerebro fue necesario segmentar el resto del mismo que no correspondía a ninguna de las partes anteriores. Para poder distinguir las partes a estudiar se utilizaron colores diferentes.

En el PD8 en la imagen 1) de la Figura 1 se aprecian las imágenes obtenidas de la segmentación de cerebro Ai (1375.07) que se observa ligeramente más pequeño (1461.86) que el PBS. En cuanto a ventrículos laterales 3) se aprecia claramente como se encuentra más grande tanto el VL izquierdo (9.6) como el derecho (12.77) con respecto al PBS (0.66 izquierdo y 0.55 derecho), a esta edad ya se puede apreciar la lesión 2) y 3) pero solo en el hipocampo derecho de la Ai, ni en el

hipocampo izquierdo ni en el PBS se observa lesión. El hipocampo 2) se observa mucho más grande en el Ai que en el PBS, tanto hipocampo derecho como izquierdo.

Para el PD 27 se puede apreciar en la Figura 2 1) como el cerebro PBS (1473.66) tiene un mayor volumen que el Ai (1325.18). El hipocampo 2) derecho e izquierdo se pueden apreciar completos en Ai pero en PBS no en forma clara, se observan incompletos y mucho más pequeños que los Ai a pesar de que, en cuanto a medidas no difieren mucho, ya que el hipocampo derecho e izquierdo del Ai miden 28.8 y 26.98 respectivamente, en PBS el hipocampo izquierdo mide 25.24 y el derecho 25.73.

La lesión en la Figura 2 apartados 2) y 3) en Ai se aprecia en ambos lados tanto izquierdo como derecho se encuentran de color rosa y verde persa, a esta edad no se aprecia una diferencia entre hemisferios, en PBS no se aprecia ningún tipo de lesión. En cuanto a los ventrículos laterales 3) en Ai se aprecian más pequeños que en PD8 pero siguen teniendo mayor tamaño que en PBS.

En el PD 48 Figura 3 se pueden apreciar perfectamente en Ai y en PBS tanto el hipocampo 2) como los ventrículos laterales 3). No se aprecia la diferencia de tamaño entre el hipocampo Ai y PBS pero los ventrículos laterales izquierdo y derecho de Ai se aprecian en la imagen más largos que en ventrículos laterales izquierdo y derecho de PBS.

Los ventrículos laterales se pueden apreciar mucho más grandes en el PD 48 Figura 3 apartado 3) de Ai que en el PD 27 Figura 2 apartado 3) pero el tamaño de la lesión no aumenta. El tamaño del cerebro sigue en aumento en ambos casos pero en PD 48 el volumen del cerebro es mayor en Ai que en PBS.

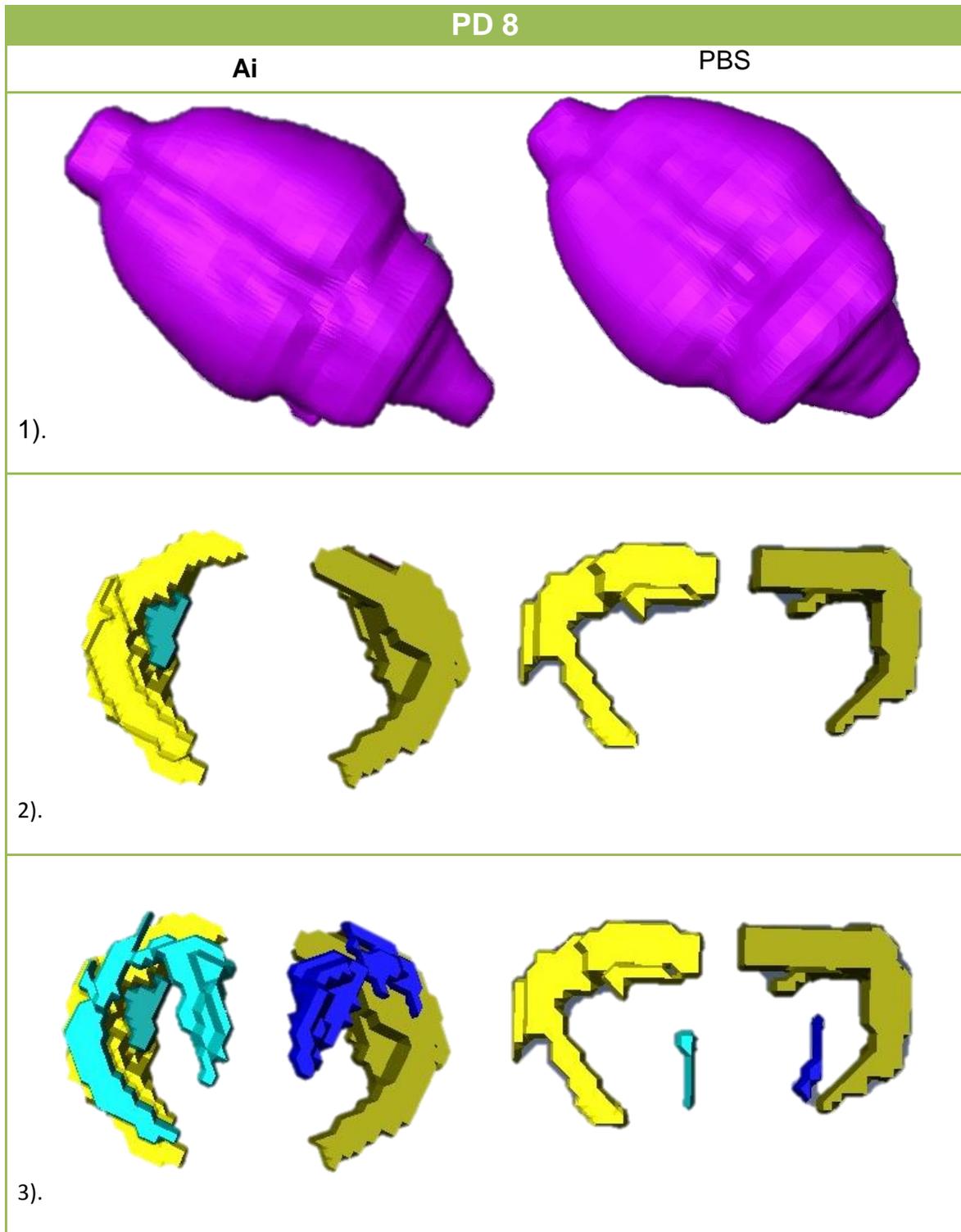


Figura 1. Comparación entre los cerebros lesionados con ácido iboténico (Ai) y los lesionados con PBS (PBS). Imágenes segmentadas del 1) cerebro completo (morado), 2) hipocampo derecho (amarillo), hipocampo izquierdo (verde), lesión derecha (verde persa) 3) hipocampo con lesión, ventrículo lateral derecho (turquesa) y ventrículo lateral izquierdo (azul rey), al siguiente día de haber hecho la lesión (ocho días de nacidas la rata).

PD 27

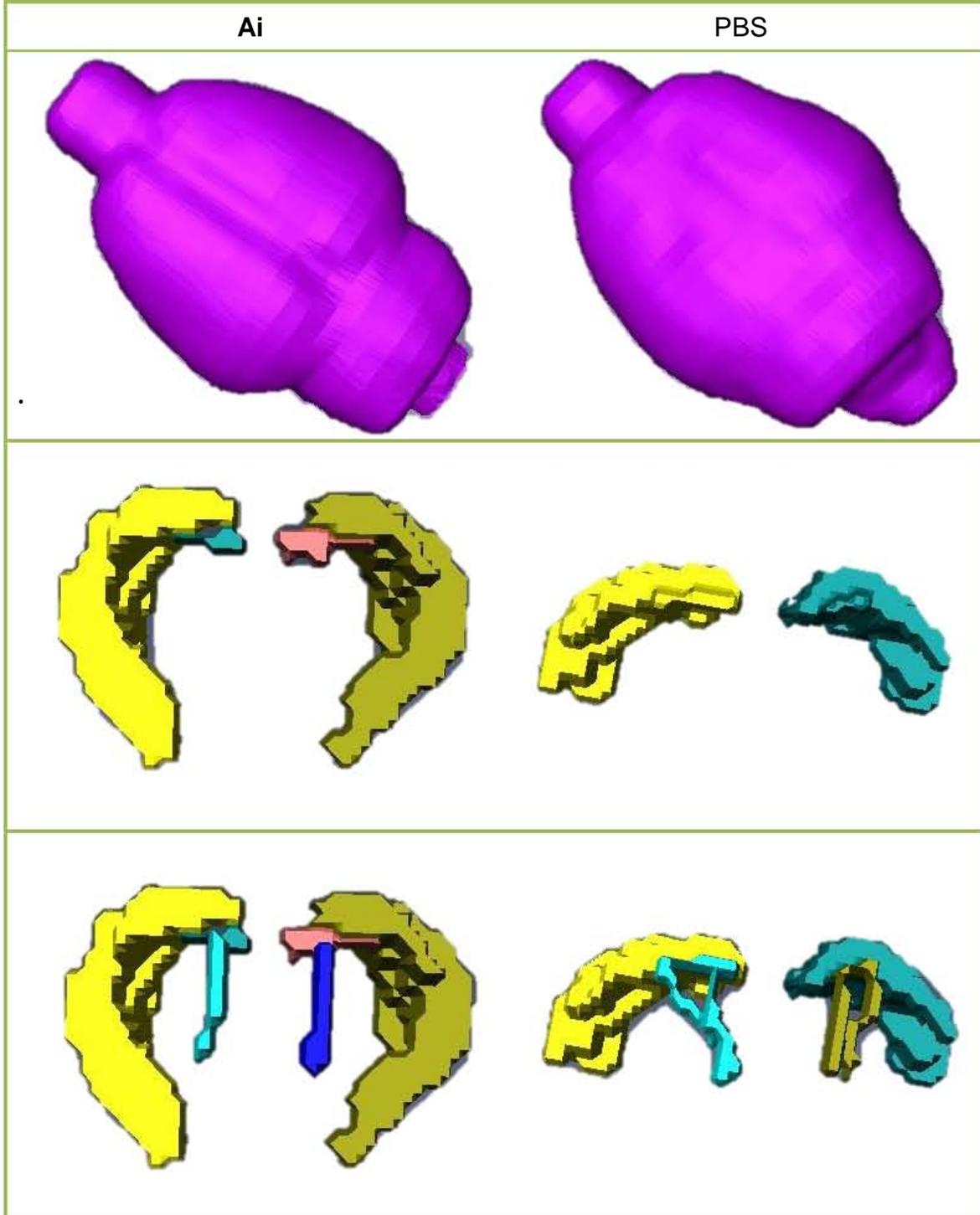


Figura 2. Comparación entre los cerebros lesionados con ácido iboténico (Ai) y los lesionados con PBS (PBS). Imágenes segmentadas del 1) cerebro completo (morado), 2) hipocampo derecho (amarillo), hipocampo izquierdo (verde), lesión derecha (verde persa) y lesión izquierda (rosa) 3) hipocampo con lesión, ventrículo lateral derecho (turquesa) y ventrículo lateral izquierdo (azul rey), a los 27 días de nacida.

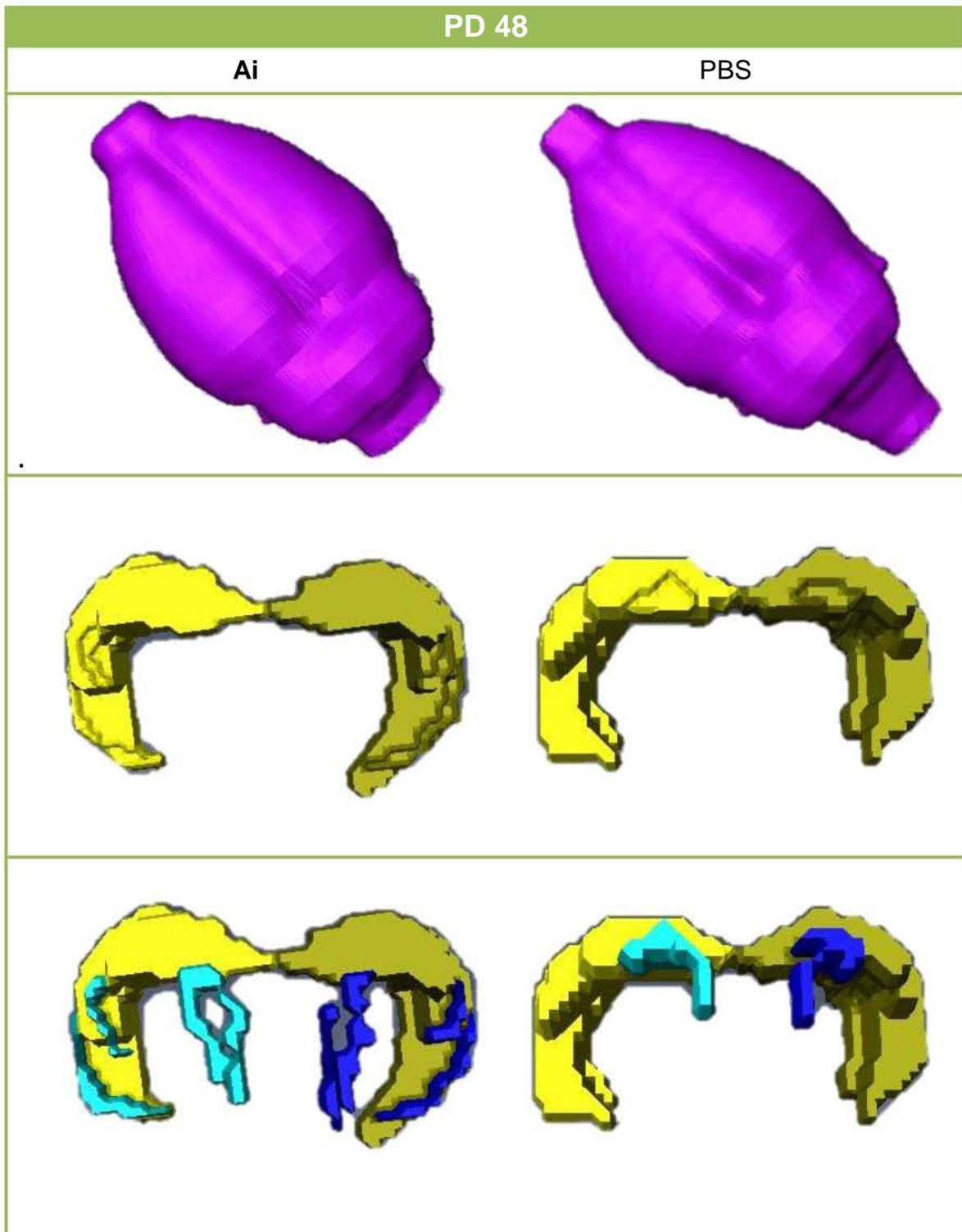


Figura 3. Comparación entre los cerebros lesionados con ácido iboténico (Ai) y los lesionados con PBS (PBS). Imágenes segmentadas del 1) cerebro completo (morado), 2) hipocampo derecho (amarillo), hipocampo izquierdo (verde) 3) hipocampo con lesión, ventrículo lateral derecho (turquesa) y ventrículo lateral izquierdo (azul rey), a los 48 días de nacida.

El día 69 después del nacimiento PD69 Figura 4 apartado 1) el volumen del cerebro aumenta con respecto al PD 48 en ambos casos tanto en Ai y PBS. El volumen del hipocampo se aprecia mayor en Ai que en PBS. La lesión se puede apreciar en el hipocampo en Ai y en PBS sigue sin apreciarse una lesión en ninguno de los dos hemisferios. Los ventrículos laterales se encuentran en menor tamaño que en el apartado 3) de la Figura 3 PD48, pero siguen siendo más largos que en PBS.

En la Figura 5 se pueden apreciar las imágenes de cerebros de ratas de 96 días de nacidas tanto Ai como PBS en el apartado 1). El hipocampo se aprecia en el apartado 2) al igual que la lesión que aparece en el hipocampo de Ai pero no en PBS, se encuentra en mayor volumen que en PD 69 a esta edad se aprecia el mayor volumen en la lesión con respecto a todas las demás edades. Los ventrículos laterales se aprecian en el apartado 3) tienen un volumen mayor los de Ai que los de PBS y también se puede apreciar un mayor que en PBS.

Para el PD 120 Figura 6 se puede apreciar en Ai una disminución considerable del volumen de la lesión y un aumento del volumen de los ventrículos laterales con respecto a la edad anterior (PD96). En PBS no se aprecia ningún tipo de lesión o aumento de volumen en los ventrículos.



La última edad de la que se tomaron imágenes con RMN fue a los 139 días que se pueden apreciar en la Figura 7, aquí se aprecia una lesión del mismo volumen en ambos hemisferios en Ai y el tamaño de los ventrículos laterales en aumento con respecto a los 120 días. El volumen de los ventrículos laterales en Ai es considerablemente mayor que en PBS, no se aprecia ningún tipo de lesión en PBS en PD139.

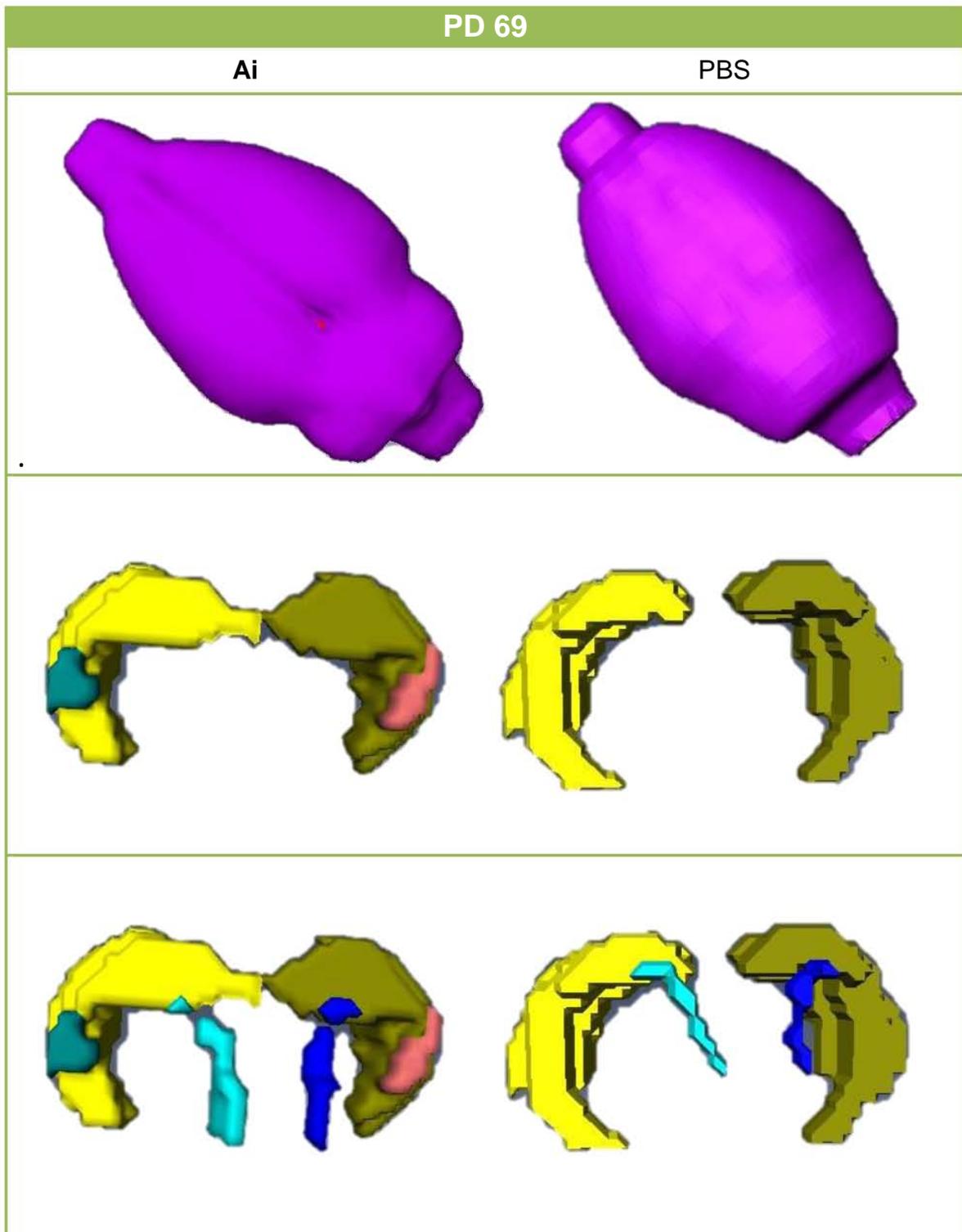


Figura 4. Comparación entre los cerebros lesionados con ácido iboténico (Ai) y los lesionados con PBS (PBS). Imágenes segmentadas del 1) cerebro completo (morado), 2) hipocampo derecho (amarillo), hipocampo izquierdo (verde), lesión derecha (verde persa) y lesión izquierda (rosa) 3) hipocampo con lesión, ventrículo lateral derecho (turquesa) y ventrículo lateral izquierdo (azul rey), a los 69 días de nacida.

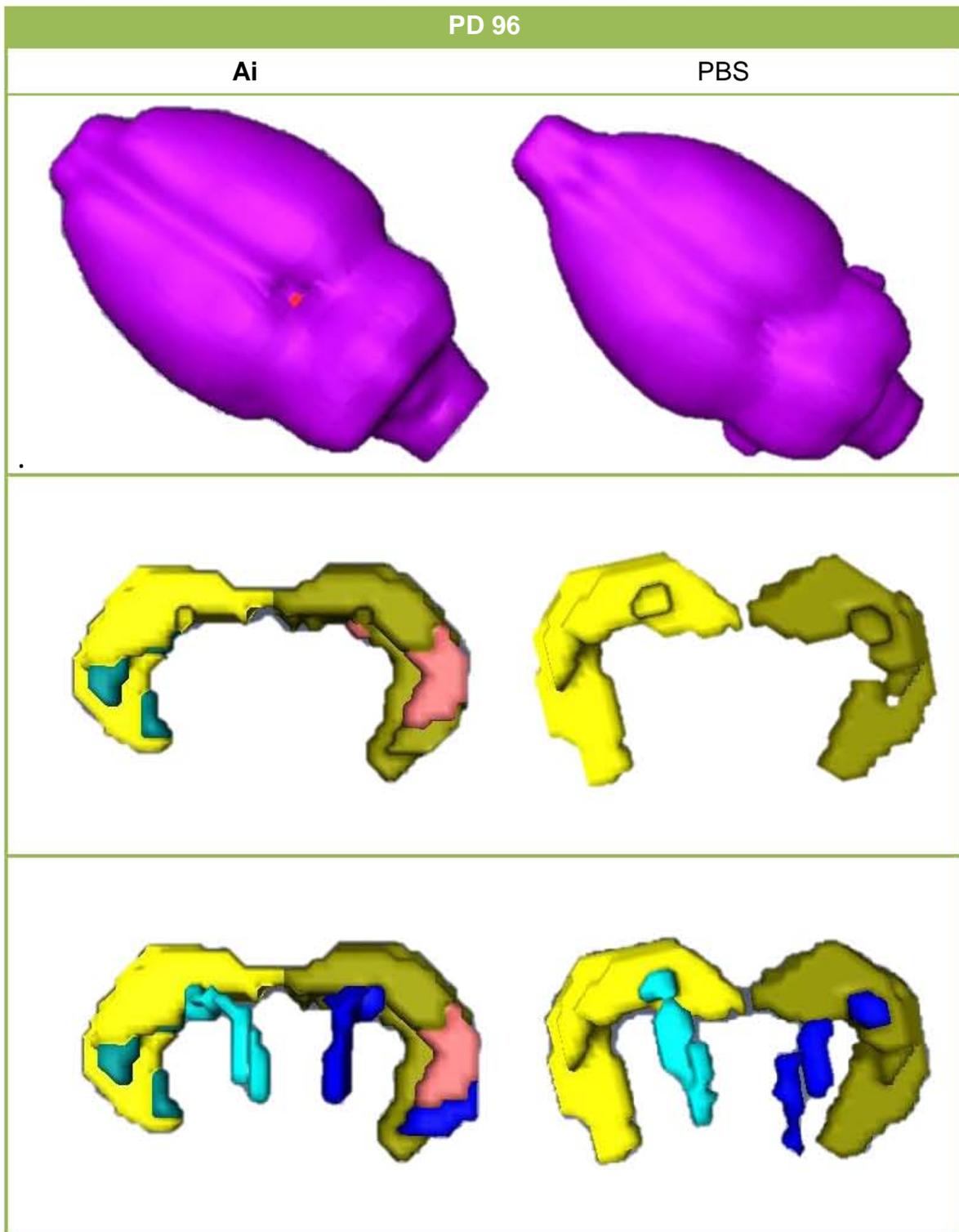


Figura 5. Comparación entre los cerebros lesionados con ácido iboténico (Ai) y los lesionados con PBS (PBS). Imágenes segmentadas del 1) cerebro completo (morado), 2) hipocampo derecho (amarillo), hipocampo izquierdo (verde), lesión derecha (verde persa) y lesión izquierda (rosa) 3) hipocampo con lesión, ventrículo lateral derecho (turquesa) y ventrículo lateral izquierdo (azul rey), a los 96 días de nacida.

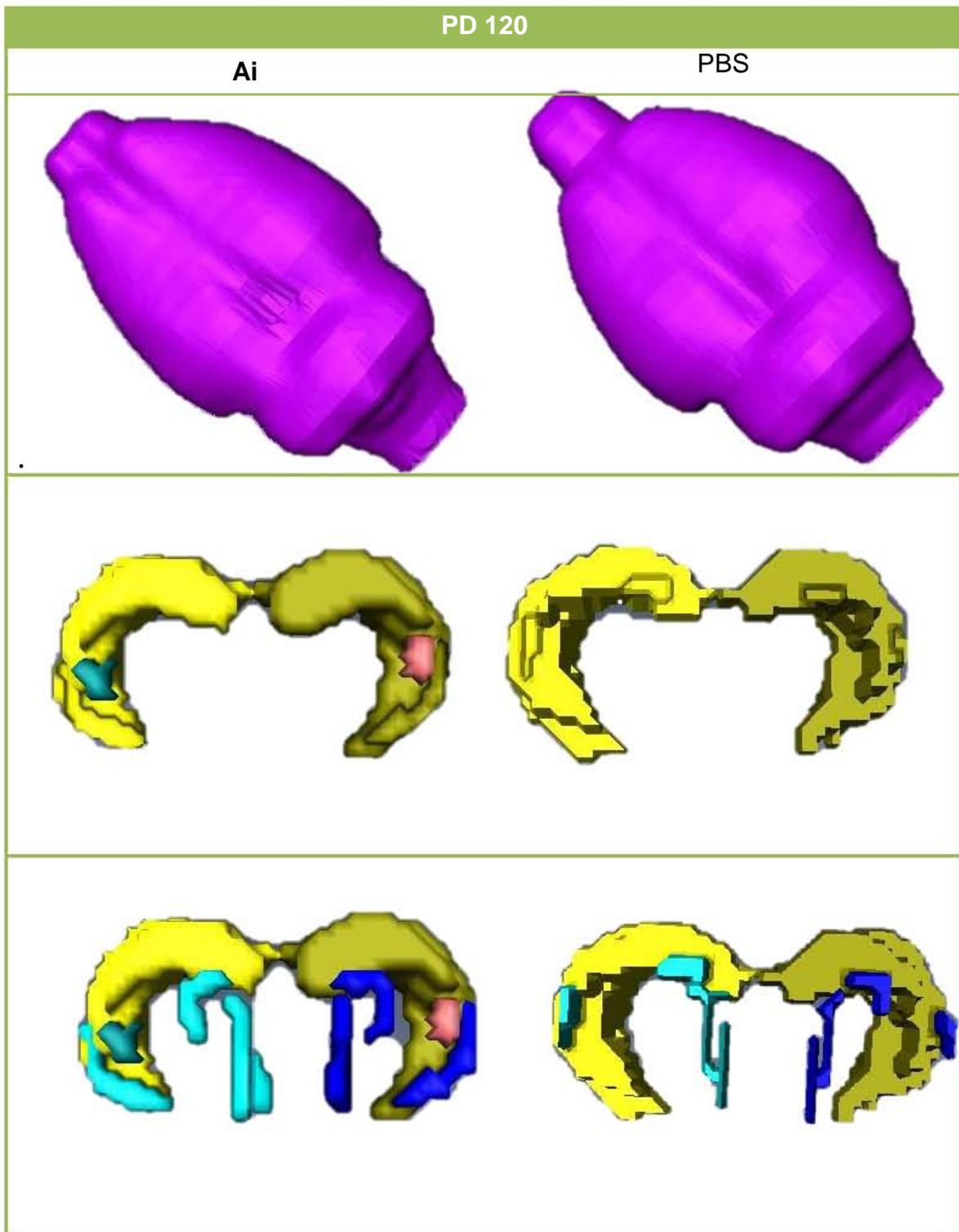


Figura 6. Comparación entre los cerebros lesionados con ácido iboténico (Ai) y los lesionados con PBS (PBS). Imágenes segmentadas del 1) cerebro completo (morado), 2) hipocampo derecho (amarillo), hipocampo izquierdo (verde), lesión derecha (verde persa) y lesión izquierda (rosa) 3) hipocampo con lesión, ventrículo lateral derecho (turquesa) y ventrículo lateral izquierdo (azul rey), a los 139 días de nacida.

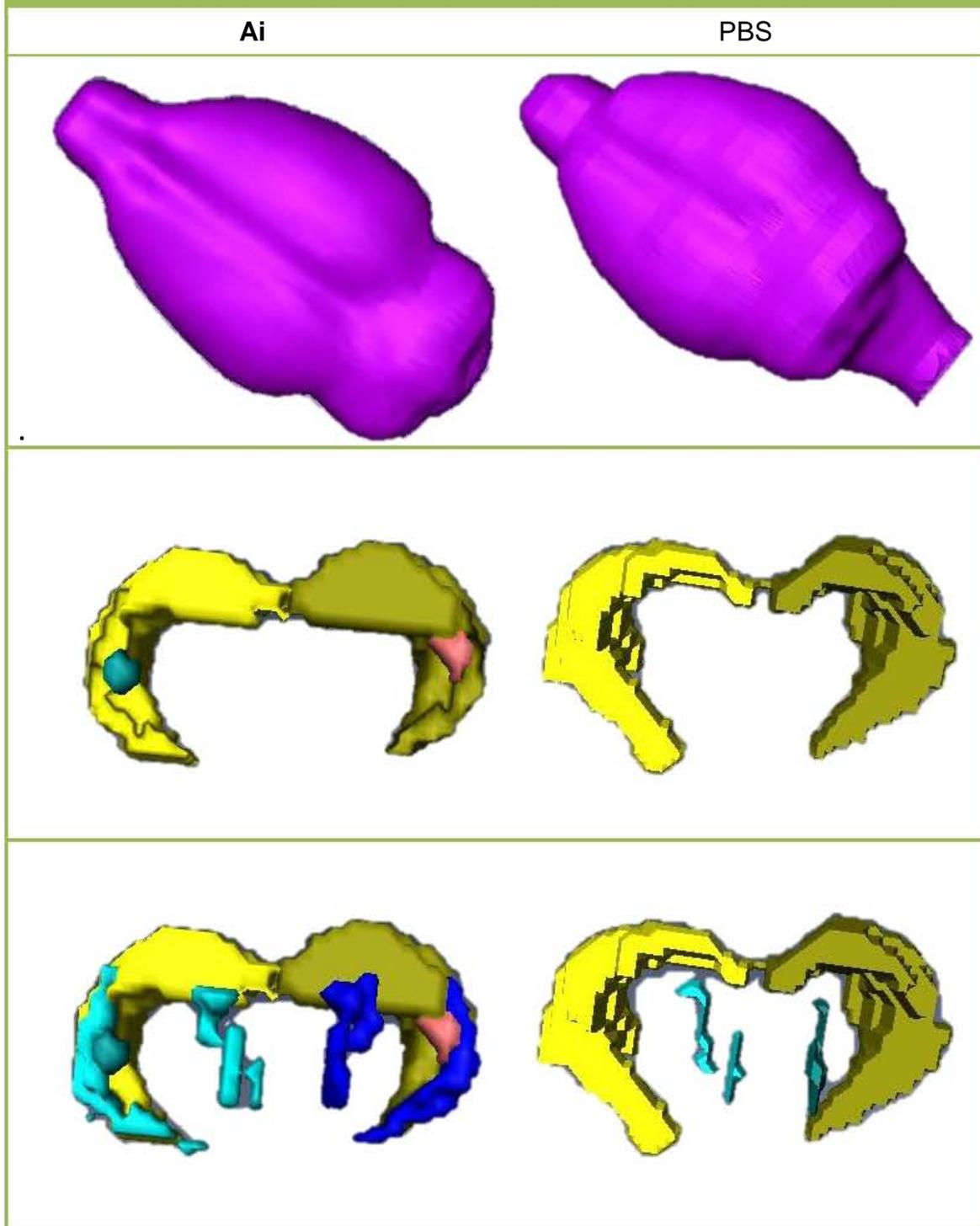


Figura 7. Comparación entre los cerebros lesionados con ácido iboténico (Ai) y los lesionados con PBS (PBS). Imágenes segmentadas del 1) cerebro completo (morado), 2) hipocampo derecho (amarillo), hipocampo izquierdo (verde), lesión derecha (verde persa) y lesión izquierda (rosa) 3) hipocampo con lesión, ventrículo lateral derecho (turquesa) y ventrículo lateral izquierdo (azul rey), a los 139 días de nacida.

Discusión

La teoría del neurodesarrollo para esquizofrenia postula que la enfermedad es el resultado conductual de una lesión primaria que ocurre en el período temprano del desarrollo cerebral mucho antes de que la enfermedad se manifieste clínicamente²⁶, basado en esto el modelo animal de lesión neonatal en el hipocampo ventral se afirma que es una herramienta útil para explorar las bases neurobiológicas de la esquizofrenia y así desarrollar tratamientos, el método de monitoreo ideal por no ser invasivo es la resonancia magnética, el cual fue utilizado en este estudio para obtener imágenes *in vivo* y ser tratadas con el software Amira con el cual se obtuvo el volumen total del cerebro, hipocampo, ventrículos y lesión a partir de imágenes en 3D.

Las imágenes de la mayoría de los animales que recibieron inyección de ácido iboténico revelaron la aparición de hiperseñales o un realce significativo en las estructuras. La ausencia de hiperseñales en animales con PBS sugiere que los observados en animales con LNHV no se deben a la acumulación de líquido inyectado, sino que están específicamente relacionados con la pérdida neuronal inducida por la neurotoxina. Es bien sabido que las hiperseñales pueden reflejar gliosis y edema²⁸, dos procesos que a menudo se producen simultáneamente y / o en un patrón en serie después del daño neuronal debido a las neurotoxinas²⁹. Por lo tanto, es posible que las hiperseñales observadas en ratas NVHL puedan corresponder a un área que contenga una cierta cantidad de tejido dañado con reacción glial grave y / o con un edema vasogénico periventricular abundante debido a la ruptura de la barrera hematoencefálica³⁰.

Los resultados obtenidos en estudios anteriores²⁴ podrían referir un estado de compensación del desarrollo para así conducir a un estado de equilibrio del sistema del roedor, pero en la literatura también encontramos que a pesar de que la neurotoxina tiene como ventaja destruir selectivamente las células dentro de la estructura dirigida se han reportado casos en los que la ubicación y la extensión de las lesiones puede variar entre animales o incluso entre hemisferios²⁴.

Las determinaciones no pudieron realizarse exactamente al momento en que terminan las diferentes etapas pero se puede tomar que el PD69 es el término de la adolescencia e inicio de la edad adulta, por lo que en esta fecha se esperaría el decremento del tamaño de lesión pero esto se da hasta el PD120 que es ya edad adulta y se encuentra muy alejada de la pubertad, esto se puede deber a que a principios de la edad adulta se sigue dando la poda sináptica⁴⁰ y a que el daño en las ratas con LNHV no alcanzó a ser compensado en la adolescencia por lo que se extendió hasta la edad adulta.

En las ratas con LNHV, se puede pensar que se comenzó con la eliminación del exceso de sinapsis neuronal hasta después del PD96 y no antes del PD69 (que se tomaría como la etapa en la que termina la adolescencia), esto para deshacerse de las conexiones innecesarias o dañadas por la lesión, y así de alguna forma reparar o compensar el daño causado por la neurotoxina.

Aunque algunos autores⁴¹ mencionan que el exceso de poda sináptica subyace a la esquizofrenia ya que resulta en la escasez de conexiones y se da en la adultez temprana o adolescencia que es momento en que la poda es más prominente.

A pesar de que la LNHV se realizó de la misma forma en ambos hemisferios la mayor parte del tiempo se observó de mayor tamaño la lesión del hemisferio izquierdo pero se llegó al equilibrio en dos momentos: PD69 que se toma como fin de la adolescencia y el PD139 que fue la última medición determinada.

La neuroinflamación se caracteriza por una cascada compleja que involucra activación microglial, señalización de citocinas regulada al alza y / o pérdida y activación astrogial que persisten más allá de una fase neuroprotectora transitoria normalmente regulada por mecanismos de retroalimentación, estableciendo así un estado patológico progresivo que promueve más lesiones neuronales⁴².

Con respecto a los ventrículos al hacer la determinación se observa que siempre se encuentran en mayor volumen que el PBS, tanto ventrículos laterales como 3ro y 4to ventrículo, esto puede deberse a que al momento de realizar la lesión se activa un mecanismo de respuesta inflamatoria como en cualquier otra lesión, primero se va a producir una vasoconstricción arteriolar, luego aparecen en el sitio dañado, determinadas cantidades de histamina, lo que produce vasodilatación y

aumento de flujo sanguíneo, debido a que la lesión tarda mucho tiempo en repararse la inflamación de los ventrículos se ve prolongada y termina con el tamaño casi al triple de las ratas PBS.

También se dice que la neuroinflamación precede a la patología de la materia blanca en la esquizofrenia³¹. Un supuesto mecanismo de aumento de la densidad neuronal de la sustancia blanca en la enfermedad implica el atrapamiento de neuronas que migran de la matriz germinal a la corteza debido a la lesión de la materia blanca temprana inducida por la inflamación. Se ha demostrado que IL-6 inhibe directamente la migración neuronal in vitro³⁷. Otro mecanismo de acción implica la diferenciación aberrante inducida por la inflamación de las células gliales en neuronas⁴².

Los principales factores de riesgo para la esquizofrenia incluyen antecedentes de infecciones maternas y prenatales, hospitalización previa por infección grave y comorbilidad autoinmune, todas las cuales vinculan a las citocinas proinflamatorias elevadas con la esquizofrenia⁴⁰. La exposición prenatal a la inflamación o infección puede dañar el desarrollo de oligodendroglia, dando como resultado una patología prominente de la sustancia blanca y alteraciones motoras, cognitivas y de comportamiento, asociadas con la esquizofrenia^{17, 19}. Se ha observado una correlación positiva significativa entre la exposición fetal a niveles elevados de IL-8 en suero materno durante el segundo y tercer trimestres y el aumento del volumen del líquido cefalorraquídeo ventricular, así como la disminución de los volúmenes corticales entorrinal izquierdo y posterior en la esquizofrenia⁴². Estos estudios apoyan la hipótesis de que el cebado microglial inducido por inflamación prenatal está involucrado en la fisiopatología de la esquizofrenia⁴³.

Conclusiones

- Se caracterizaron los cambios estructurales en cerebros de ratas Wistar con lesión neonatal en el hipocampo ventral a diferentes edades como ayuda al diagnóstico de la enfermedad.
- Se obtuvieron los volúmenes de: hipocampo, ventrículos laterales, tercer y cuarto ventrículo, así como el progreso de la lesión producida por el ácido iboténico.
- Se demostró que el periodo de vida en el que se presentó el mayor crecimiento de la lesión fue en la adolescencia y con las mediciones obtenidas de los ventrículos se encontró que existe un proceso de inflamación de ventrículos debido a la LNHV.

Referencias.

1. Organización Mundial de la Salud. Nota descriptiva N° 397. OMS; 2016.
2. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-V). Quinta Edición. Madrid: Editorial Panamericana; 2014.
3. Tseng KY, Chambers RA, Lipska BK. The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. *Behavioral Brain Research*. Elsevier. 2009; 204: 295-305.
4. Genis MA, López-Rubacava C. ¿Es posible modelar esquizofrenia en un modelo animal? *El residente*. 2011; 6 (2): 120-126.
5. Ratajczak P, Wozniak A, Nowakowska E. Animal models of schizophrenia: Developmental preparation in rats. *Neurobiol Exp*. 2013; 73: 472-484.
6. Sell E. Resonancia Magnética Funcional. *Actualizaciones en neurología infantil*. 2007; 67 (1): 661-664.
7. Secretaría de Salud; 2015.
8. Castro A. [www.jornada.unam.mx]. Hospital Psiquiátrico de Morelos del IMSS. 28 de noviembre 2014 [accesado el 15 de febrero del 2017]. <http://www.jornada.unam.mx/2014/11/28/ciencias/a02n1cie>.
9. Kolb B, Whishaw IQ. Brain plasticity and behavior. *Annual Review of Psychology*. 1998; 49: 43-64.
10. Organización Mundial de la Salud (OMS); 2013.
11. Gejman P, Sanders A. La etiología de la esquizofrenia. *Medicina*. 2012; 72: 227-234.
12. Kraepelin E. *Lectures on Clinical Psychiatry*. William Wood and Company. New York; 1913.
13. Weiss AP, Heckers S. Neuroimaging of declarative memory in schizophrenia. *Scandinavian Journal of Psychology*. 2001; 42: 239-250.
14. Konradi C, Heckers S. Antipsychotic drugs and neuroplasticity: insights into the treatment and neurobiology of schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2001; 50: 729-742

15. Pínel J. Biopsicología. 4ª ed. Madrid: Pearson Educación S.A.; 2001.
16. Castro-Sierra E, Ponce de León C, Gordillo LF, Portugal A. Neurotransmisores del sistema límbico. Hipocampo, GABA y memoria. Primera parte. Salud Mental. 2007; 30 (4): 7-15.
17. Lajtha A, Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology. Nueva York. Springer Reference. 2009.
18. Laplante F, Nakagawasai O, Srivastava L, Quiron R. Alterations in Behavioral Responses to a Cholinergic Agonist in Post-Pubertal Rats with Neonatal Ventral Hippocampal Lesions: Relationship to Changes in Muscarinic Receptor Levels. Neuropsychopharmacology. 2005; 30: 1076-1087.
19. Sandner G, Angst MJ, Guiberteau T, Guignard B, Brasee D. MRI and X-ray scanning images of the brain of 3-, 6- and 9- month-old rats with bilateral neonatal ventral hippocampus lesions. NeuroImage. 2010: 1-7.
20. Sell E. Resonancia magnética funcional. Medicina. 2007; 67 (1): 661-664.
21. Costa J, Soria JA. Resonancia magnética dirigida a técnicos superiores en imagen para el diagnóstico. Barcelona: Elsevier; 2015.
22. Calvo E. Resonancia magnética para técnicos. Guadalajara; 2013.
23. Oleaga L, Lafuente J. Monografía SERAM. Aprendiendo los fundamentos de la resonancia magnética. España: Editorial Médica Panamericana, S.A.; 2007.
24. Bertrand J-B, Langlois J-B, Bégou M, Volle J, Brun P, Dámato T, Saoud M, Suaud-Chagny M-F. Longitudinal MRI Monitoring of Brain Damage in the Neonatal Ventral Hippocampal Lesion Rat Model of Schizophrenia. Francia: Hippocampus. 2010; 20: 264-278.
25. Ashe PC, Berry MD, Boulton AA. Schizophrenia, a neurodegenerative disorder with neurodevelopmental antecedents. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry. 2001; 25 (4): 691-707.
26. Weinberger DR, Lipska BK. Cortical maldevelopment, antipsychotic drugs and schizophrenia: a search for a common ground. 1995; 16: 87-110.
27. Cossio-Bolaños Marco, Gómez Campos Rosanna, Vargas Vitoria Rodrigo,

- Hochmuller Fogaça Rosalvo Tadeu, Arruda Miguel de. Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. 2013; 28(6): 2151-2156.
28. Bouillere V, Nehlig A., Marescaux C., Namer IJ: Magnetic resonance imaging follow-up of progressive hippocampal changes in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2000; 41:642-650.
 29. Kohler CG, Turner TH, Bilker WB, Brensinger CM, Siegel SJ, Kanes SJ, Gur RE, Gur RC. Facial emotion recognition in schizophrenia: intensity effects and error pattern. *Am J Psychiatry*, 2003 Oct; 160 (10): 1768-74
 30. Namer IJ, Steibel J, Kilinguer C, Trifilieff E, Mohr M, Poulet P. Magnetic resonance imaging of PLP-induced experimental allergic encephalomyelitis in Lewis rats. *J Neuroimmunol*. 1998. 92:22-28.
 31. De Bellis MD, Keshavan MS, Beers SR, Hall J. Frustaci K, Masalehdan A, Noll J, Boring AM. Sex differences in brain maturation during childhood and adolescence. 2001. *Cereb Cortex*; 11:552-557.
 32. Laplante F., Nakagawasai O., Srivastava L., Quiron R. Alterations in Behavioral Responses to a Cholinergic Agonist in Post-Pubertal Rats with Neonatal Ventral Hippocampal Lesions: Relationship to Changes in Muscarinic Receptor Levels.
 33. Genetic Science Learning Center [Internet]. N.d. Animal Models for Addiction Research. [Consultado el 13, 11, 2018]. Disponible en: <https://learn.genetics.utah.edu/content/addiction/mice/>
 34. Photis Dais, Apostolos Spyros. Nuclear Magnetic Resonance. 2012. *Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications*; 91-115.
 35. Tocchio Shannon, Kline-Fath Beth, Kanal Emanuel. MRI Evaluation and Safety in the Developing Brain. 2016. *HHS Public Access*; 39 (2): 1-60.
 36. Louro O. Ricardo, Introduction to Biomolecular NMR and Metals. 2013. *Practical Approaches to Biological Inorganic Chemistry*; 4: 77-107.
 37. Anderson C. Nancy, Nopoulos Peg, Magnotta Vincent, Pierson Ronald, Ziebell Steven, Ho Beng-Choon. Progressive Brain Change in Schizophrenia: A Prospective Longitudinal Study of First-Episode

- Schizophrenia. 2011. *Biol Psychiatry*; 70 (7): 672-679.
38. Genis-Mendoza, A. D., Beltrán-Villalobos, I., & Nicolini-Sánchez, H. (2014). Behavioral assessment of the schizophrenia-like” phenotype in an animal model of neonatal lesion in the ventral hippocampus (NLVH) of young and adult rats. *Gaceta Médica de México*, 150 (5), 420-431.
 39. Hoshina Y, Takeo T, Nakano K, Sato T, Sakuma Y. (1994). Axon-sparing lesion of the preoptic area enhances receptivity and diminishes perceptivity among components of female rat sexual behavior. *Behav. Brain Res.* 61, 197–204.
 40. Jean-Baptiste Bertrand, Jean-Baptiste, Langlois, Mélina Bégou, Julien Volle, Philippe Brun, Thierry d’Amato, Mohamed Saoud (2010). Longitudinal MRI Monitoring of Brain Damage in the Neonatal Ventral Hippocampal Lesion Rat Model of Schizophrenia. *Hippocampus*, 20: 264-278.
 41. Bahrini Insaf, Ji-hoon Song, Diez Diego & Hanayama Rikinari (2015), Neuronal exosomes facilitate synaptic pruning by up-regulating complement factors in microglia. *Scientific Reports*, 7989 (5).
 42. Najjar Souhel, Pearlman M. Daniel. Neuroinflammation and white matter pathology in schizophrenia: systematic review. *Schizophrenia Research.* 2010; 161: 102-112.
 43. Keith A. Feigenson, Alex W. Kusnecov, Steven M. Silverstein. Inflammation and the two-hit hypothesis of schizophrenia. *Neurosci Biobehav.* 2014; 38: 72-93.
 44. P. Fusar-Poli, R. Smieskova, M.J. Kempton. Progressive brain changes in schizophrenia related to antipsychotic treatment? A meta-analysis of longitudinal MRI studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 2013; 37: 1680-1691.

Anexos

Anexo 1

Lesión neonatal en el hipocampo ventral.

Cirugía

Material biológico

16 ratas Wistar con 7 días de nacimiento (PD 7) de 12-15g al inicio del experimento. En el ciclo de luz invertido 12/12 con acceso libre a agua y alimento; se les restringió el alimento para llegar al 85 % a partir de los días de habituación de la tarea de tiempo de reacción con 5 alternativas (5-CSRTT).

Equipo

Estereotáxico y adaptador para ratones Stoelting.

Instrumentos

Lámpara con foco

Aguja Hamilton

Material

Sutura

Aguja para sutura

Soluciones

Solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, pH 7.4 (PBS)

Yodo

Ácido iboténico

Método

Cirugía

Todas las mediciones se realizaron siguiendo las regulaciones establecidas en la norma oficial mexicana para el uso y el cuidado de los animales de laboratorio “NOM-062-ZOO-1999”, así como las regulaciones del comité de ética de la asociación internacional para el estudio del dolor.

Basados en el procedimiento Lipska, Lerman, Khaing, y Weinberger (2003), las ratas fueron colocadas durante 10 minutos en hielo (Crioanestecia) para después ser montadas en el adaptador del estereotáxico. Se realizó una incisión en la piel del cráneo. Se infundieron 0.3 μ l de ácido iboténico (disuelto en buffer de fosfatos 0.1M, pH 7.4) para el grupo de lesión (n=8) o control (n=8) directamente en el hipocampo ventral (AP-2.0mm, LD +2.5mm, LI -2.5mm, VD -3.3mm; relativo a Bregma) de manera bilateral en un periodo de 2 minutos por lado con una cánula de acero inoxidable de 30ga de grosor. La aguja se dejó 3 minutos más después de terminar la infusión para evitar derrames. La incisión fue suturada con 3-4 puntos y se limpió con yodo para prevenir infecciones. Los sujetos recién operados se colocaron bajo una lámpara hasta recuperar su temperatura corporal; se regresaron con sus madres aproximadamente 40 minutos después de la cirugía. Los sujetos fueron alimentados por sus madres hasta el PD 22.

Glosario

5-CSRTT	Tarea de Tiempo de reacción con 5 alternativas o Five choice serial reaction time task.
Ácido iboténico	Toxina origen micológico (micotoxina), estructuralmente un aminoácido neurotóxico. Cuando es ingerido se descarboxila en muscimol.
Aguja Hamilton	Aguja larga de acero inoxidable que es conectada a una jeringa, es utilizada para inyección de soluciones en cirugías.
Cognitivo	Del conocimiento o relacionado con él.
Corteza entorrinal	(Ento = interior, rhino = nariz, entorrinal = interior al surco rinal) está localizada en el lóbulo temporal medio y funciona como un hub en una red extendida para la memoria y la orientación. La CE es la interfaz principal entre el hipocampo y el neocórtex.
Cortical	De la corteza cerebral o relacionado con ella.
Esquizofrenia	Es una psicosis, un tipo de enfermedad mental caracterizado por una distorsión del pensamiento, las percepciones, las emociones, el lenguaje, la conciencia de sí mismo y la conducta.
Estereotáxico	Es el aparato que se utiliza para una cirugía estereotáxica por un orificio pudiéndose abordar cualquier estructura superficial o profunda del encéfalo con extrema exactitud y precisión.
Fórnix	Trígono cerebral, bóveda de los 4 pilares o fondo de saco (en latín, "bóveda" o "arco") es un conjunto de haces nerviosos en forma de C del cerebro y lleva las señales desde el hipocampo al hipotálamo.
Hipocampo	Es un pequeño órgano situado dentro del lóbulo temporal intermedio del cerebro y crea a una parte importante del sistema límbico, la región que regula emociones. El hipocampo se asocia principal a la memoria, particularmente memoria a largo plazo.
LNHV	Lesión neonatal en el hipocampo ventral. Es un modelo animal para esquizofrenia que consiste en inyectar ácido iboténico en el hipocampo ventral de un roedor para así generar síntomas

	"tipo esquizofrenia".
Mielinización	Consiste en recubrir los axones (partes de las neuronas en forma de cilindro alargado) con una sustancia llamada mielina o vaina de mielina, que se encarga de brindar protección específicamente a estas partes de la neurona.
Modelo animal	Un organismo modelo en biología muy estudiada para entender fenómenos biológicos particulares, que puedan darnos una idea de cómo funcionan esos procesos en otros organismos.
Neurodesarrollo	Evolución gradual en la formación del sistema nervioso. En el caso del ser humano, ocurre a partir del ectodermo dorsal en embriones recién formados.
Neurotoxina	Toxina que actúa sobre el sistema nervioso.
PBS	Solución amortiguadora de fosfatos. Preparada a partir de cloro de sodio, fosfato de sodio y, en algunas formulaciones, con fosfato de potasio.
Psicosis	Enfermedad mental grave que se caracteriza por una alteración global de la personalidad acompañada de un trastorno grave del sentido de la realidad.
Resonancia magnética	Es una tecnología de imágenes no invasiva que produce imágenes anatómicas tridimensionales detalladas, sin el uso de la radiación dañina.
Septum	Significa tabique, y es un término anatómico que se utiliza para referirse a una partición o división. Es una estructura subcortical del cerebro anterior que se encuentra cerca de la línea media del cerebro. El septum en humanos se puede separar en dos estructuras: el <i>septum pellucidum</i> y el <i>septum verum</i> .
Spin	El espín (del inglés spin 'giro, girar') es una propiedad física de las partículas elementales por el cual tienen un momento angular intrínseco de valor fijo.
Ventrículo	Cavidad del encéfalo que, en número de cuatro, contiene el líquido cefalorraquídeo.
Voxel	Unidad cúbica que compone un objeto tridimensional.