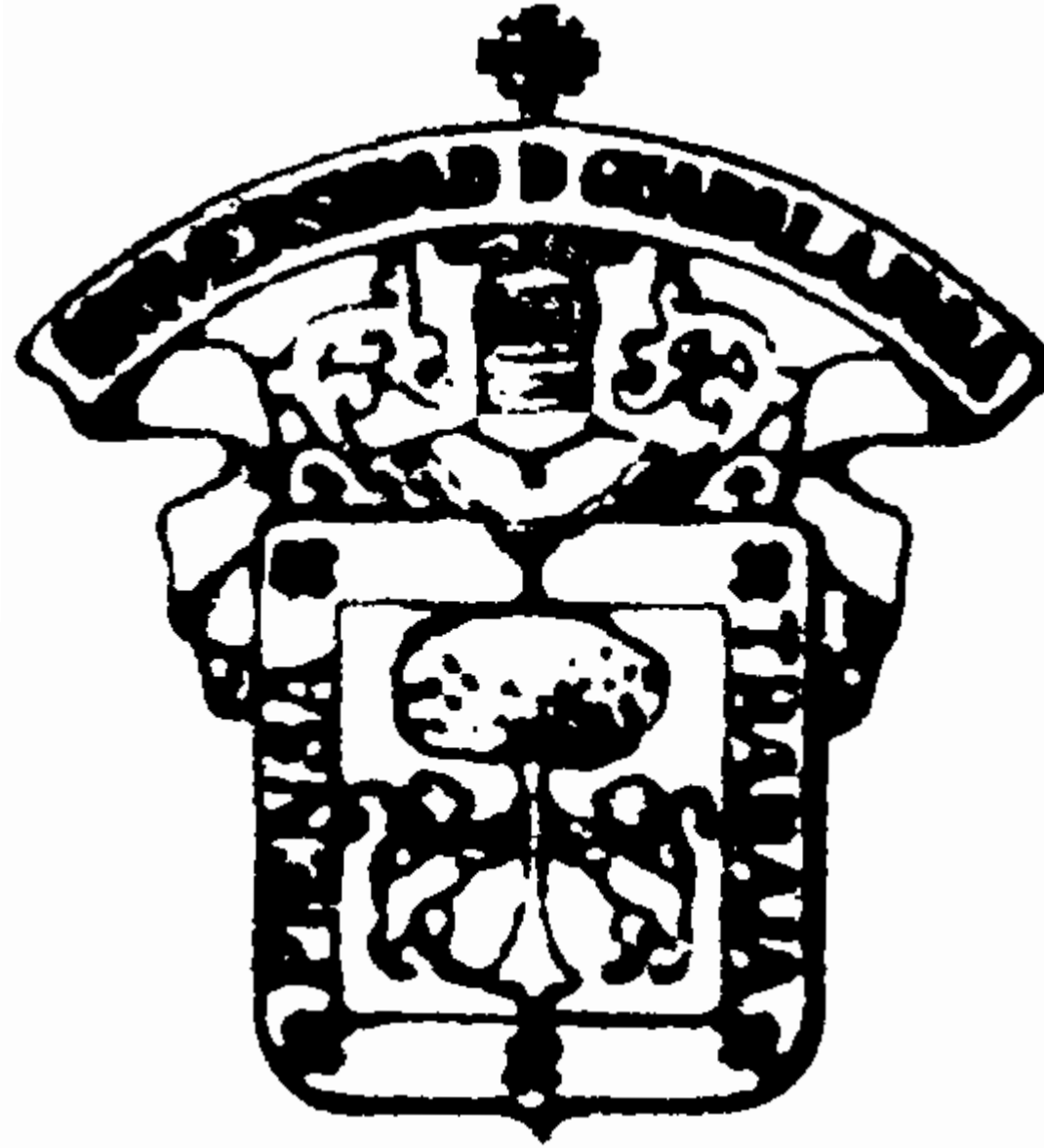


1985-2

Reg. No. 78271027

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



**ESTRUCTURA DE LA CORTEZA CEREBELAR EN
CUYOS (Cavia porcellus), RECIEN NACIDOS
Y ADULTOS. ESTUDIO COMPARATIVO.**

GERARDO JESUS FLORES DIAZ

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGIA

ESTRUCTURA DE LA CORTEZA CEREBELAR EN CUYOS (Cavia porcellus),
RECIEN NACIDOS Y ADULTOS. ESTUDIO COMPARATIVO.

TESIS
QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE:
LICENCIADO EN BIOLOGIA
PRESENTA
GERARDO JESUS FLORES DIAZ

ENERO DE 1987

ESTRUCTURA DE LA CORTEZA CEREBELAR EN CUYOS (Cavia porcellus),
RECIEN NACIDOS Y ADULTOS. ESTUDIO COMPARATIVO.

ESTRUCTURA DE LA CORTEZA CEREBELAR EN CUYOS (Cavia porcellus),
RECIEN NACIDOS Y ADULTOS. ESTUDIO COMPARATIVO.

GERARDO JESUS FLORES DIAZ

DIRECTOR DE TESIS :

M. en C. Juan Mora Galindo

Esta tesis fué realizada en la División de Biología del Desarrollo de la Unidad de Investigaciones Biomédicas de Occidente del Instituto Mexicano del Seguro Social, bajo la dirección del M. en C. Juan Mora Galindo.

A mis padres :

GERARDO E IRIS

AGRADECIMIENTOS

Al M. en C. Juan Mora Galindo por aceptar dirigir este trabajo y el constante interés que muestra por la superación académica de sus alumnos.

A la Biol. Estela Aceves por su entusiasmo y decidida colaboración para que se realizara este trabajo.

A la Sra. Susana Ramírez de Mora por su constante apoyo y ayuda en el trabajo.

A la técnica laboratorista Gpe. Xóchitl Calderón Gallo por su ayuda técnica durante el trabajo de laboratorio de histología.

Al Ing. Alberto Toledo Alarcón de Laboratorios ANCHOR por la donación de los cuyos y el cuidado de los mismos.

Al Dr. Jesús Gómez Plascencia y Castillo por la revisión y sugerencias al trabajo.

A mi hermano Arturo por su estímulo y ayuda en la elaboración de este trabajo.

INDICE

| | |
|---|----|
| Introducción - Justificación | 0 |
| Antecedentes Científicos | 1 |
| Planteamiento del Problema | 19 |
| Hipotesis | 20 |
| Objetivos | 21 |
| Material y Métodos | 22 |
| Resultados | 24 |
| Análisis de Resultados | 27 |
| Conclusiones | 31 |
| Lista de Abreviaturas | 32 |
| Esquemas y Figuras | 34 |
| Bibliografía | 63 |
| Carta de Aceptación del Tema de Tesis | 66 |
| Constancia de Aceptación por el Director de Tesis | 67 |

INTRODUCCION

La corteza del cerebelo es la región del sistema nervioso central en dónde la correlación de la anatomía con la función se ha determinado con mayor precisión. Se ha demostrado que juega un papel muy importante en el control central para la organización del movimiento. En los cuyos (Cavia porcellus), parece ser que es más evidente, ya que en éste especie de mamíferos, el recién nacido es autosuficiente, pues desde que nacen, sus movimientos son precisos, lo que indica que desde entonces existe un nivel funcional desarrollado del sistema nervioso central. Además, nacen con los ojos abiertos, con dientes y pueden sobrevivir si la madre los abandona a las pocas horas del alumbramiento (ya que pueden ingerir alimentos sólidos).

El presente trabajo consistió en describir la histología de la corteza cerebelosa en cuyos recién nacidos y adultos para determinar las diferencias existentes entre la corteza cerebelosa en éstas dos edades de los cuyos.

El presente estudio se realizó debido a la escases de conocimientos sobre el desarrollo morfohistológico de la corteza cerebelosa en los cuyos (Cavia porcellus), (aunque he recibido información al respecto por comunicación personal del Dr. Genaro Ortiz), y al desarrollo funcional tan adelantado del recién nacido en comparación con otras especies de mamíferos; que probablemente influya en la estructura de la corteza cerebelosa. Además, siendo el cuyo un animal de laboratorio muy utilizado, es importante conocer la histología de la corteza cerebelosa a diferentes edades.

ANTECEDENTES

EL CEREBELO Y SUS FUNCIONES MOTORAS

El cerebelo es la porción más voluminosa del cerebro posterior y constituye la parte del encéfalo situada en la región posterior de la base del cráneo, por detrás del bulbo, de la protuberancia y de los pedúnculos cerebelosos posteriores (Fig. 1). Esta colocada por debajo de los lóbulos occipitales de los hemisferios cerebrales, de los que se halla separado por la tienda del cerebelo. Ocupa totalmente las fosas cerebelosas del hueso occipital, aunque por abajo del agujero magno la amígdala cerebelosa penetra en la parte superior del conducto raquídeo, donde establece contacto con la porción posterolateral del bulbo. Tiene forma ovoide, aplanado de arriba abajo. Considerado en su conjunto, está formado por dos masas voluminosas: los hemisferios cerebelosos, unidos por un saliente anteroposterior segmentado en sentido transversal que es el vermis, el cual visto por arriba, apenas se individualiza de los hemisferios, mientras que por abajo está bien diferenciado de ellos gracias a la depresión en que se encuentra, llamada surco ó cisura media del cerebelo ó vallécula (Quiróz G, 1983).

A pesar de que el cerebelo es mucho más pequeño que el cerebro, comparte rasgos morfológicos con él. Como en el cerebro, las funciones fundamentales del cerebelo están confinadas a la capa delgada de materia gris, que forma la corteza, y como en el cerebro, esta capa está doblada y plegada para incrementar el área. De hecho, los dobleces de la corteza cerebelar son mucho más profundos y los espacios más cerrados que los de la corteza cerebral. Si el cerebelo se parte por la mitad, los dobleces forman un patrón que se parece a un árbol (Fig. 1) y

que los anatómistas medievales denominaron el "árbol vitae" (árbol de la vida) (Llinás, 1975). La materia blanca central contiene fibras eferentes que llegan a la corteza cerebelosa y fibras aferentes que van de la corteza hacia estructuras extracerebelares y a los núcleos profundos del cerebelo (Lawrence y col, 1982) .

El cerebelo desde hace tiempo se llama "área silenciosa" del encéfalo, porque la excitación eléctrica de esta estructura no provoca ninguna sensación y raramente movimientos motores. Sin embargo, la extirpación del cerebelo hace que los movimientos motores resulten anormales, tanto que algunos neurofisiólogos consideran que el cerebelo es tan importante como todos los demás elementos de control motor del sistema nervioso. El cerebelo resulta especialmente vital para el control de actividades musculares rápidas como el correr, escribir a máquina, tocar el piano, incluso hablar. La pérdida de esta zona del encéfalo puede hacer perder cada una de estas actividades, aunque sin provocar parálisis de los músculos. De esto se deduce que el cerebelo "vigila" y establece ajustes correctores de las actividades motoras desencadenadas por otras partes del encéfalo (Guyton , 1979).

LA CORTEZA DEL CEREBELO

La región del cerebelo, donde se ha determinado con gran precisión la correlación de la anatomía con la función es la corteza del cerebelo. Los conceptos fundamentales de la estructura neuronal del cerebelo fueron establecidos por Ramón y Cajal en 1888, quien empleó la técnica de impregnación que desarrolló en 1873 Golgi. Con esta técnica el tejido se impregna con sales de plata, Ramón y Cajal identificó por medio de cortes teñidos de esta forma las principales neuro -

nas de la corteza cerebelosa y describió su distribución en el espacio, así como sus interconexiones (Llinás, 1975).

Las investigaciones más recientes en las que se ha usado el microscópio electrónico, no han alterado esencialmente el cuadro que Ramón y Cajal describió, pero han esclarecido detalles de las conexiones neuronales. Dicho autor identificó las tres capas de la corteza cerebelosa: la capa molecular (Mol) ó capa plexiforme (la más superficial); la capa intermedia de células de Purkinje (Pk) y la capa granular interna (Gran) (Fig. 2) (Brobeck, 1983).

Actualmente se considera que el circuito básico de la corteza cerebelosa (dentro de sus tres capas celulares), involucra a siete elementos nerviosos a saber: las fibras trepadoras (FT) y musgosas (FM) ambas del sistema aferente; las células de Purkinje (CP); las células granulares (CGr); las células de Golgi tipo II (CG); las células en canasta (CC) y las células estrelladas (CE) (Fig. 2). F.G. Bloom y col (referido por Llinás, 1975) han reportado recientemente un tercer sistema aferente además de las fibras trepadoras y musgasas. Este consiste de fibras inhibitorias que emergen del locus coeruleus. Pero todavía no está claro como está relacionado este sistema a las otras funciones del cerebelo.

Las neuronas tienen diversas formas, pero todas ellas poseen ciertas estructuras en común; cada neurona tiene un soma o cuerpo celular que contiene el núcleo y la mayor parte del citoplasma. Poseen además dendritas que se ramifican repetidamente, y el axón que puede estar completamente a lo largo y puede o no ramificarse. Las terminaciones dendríticas conducen impulsos nerviosos hacia el soma; y el axón conduce impulsos fuera de él. La unión donde el axón de una célula toca a una dendrita de otra célula se llama sinapsis. Cuando un impulso nervioso

alcanza el punto terminal del axón, éste provoca la liberación de una substancia transmisora que pasa a través de la sinapsis y altera la permeabilidad de la membrana de la dendrita en la célula próxima, que permite la entrada de ciertos iones. El flujo eléctrico que se produce a través de la membrana genera una pequeña corriente eléctrica que se propaga como un "disturbio" eléctrico local de la membrana, desde la dendrita hasta el soma. Si el estímulo de la neurona es "excitatorio" y excede un umbral (límite), la célula receptora se "encenderá" y el impulso será conducido a través del axón a la siguiente sinapsis. Si el estímulo de la primera célula es "inhibitorio", la probabilidad de que la célula receptora se "encienda" se reduce (Llinás, 1975; Junqueira, 1972).

CAPA DE CELULAS DE PURKINJE (Pk)

Las células de Purkinje (CP) fueron de las primeras neuronas en reconocerse en el sistema nervioso central. Su nombre se debe a Johannes E. Purkinje, quien las describió en 1857. Estas neuronas están entre las neuronas más complejas y grandes, tienen forma de pera y son peculiares del cerebelo (Fig. 2). Cada neurona tiene un gran aparato dendrítico asignado a enviar los impulsos al soma y a un axón delgado. Las dendritas de una célula de Purkinje típica humano pueden formar tantas como 100,000 sinapsis con fibras aferentes y más que cualquier otra célula en el sistema nervioso central. Dichas dendritas poseen "espinas" (e), por medio de las cuales establecen sinapsis con las demás neuronas y fibras (Fig. 2). Las células de Purkinje son el elemento pivote en el trabajo neuronal de la corteza cerebelosa. Dichas células se encuentran localizadas en la capa intermedia de la corteza cerebelosa, sus dendritas pasan hacia afuera a través de todo

el espesor de la capa molecular, donde se arborizan abundantemente (Fig. 11-B), pero únicamente en dos dimensiones, como un abanico en un solo plano geométrico (el plano forma ángulo recto con el eje longitudinal de la folia; Fig. 2). Paralelas a estas dendritas corren las fibras trepadoras que establecen sinopsis "excitatorias" sobre ellas (Fig. 3). En ángulo recto con las dendritas y paralelas al eje longitudinal de la folia están las fibras paralelas, que también forman sinopsis excitadoras sobre las dendritas de las células de Purkinje (Fig. 2 y 4). Los axones de las células de Purkinje son mielínicos y junto con los axones de las fibras musgosas constituyen la sustancia blanca central (Sb) del cerebelo (Fig. 2 y 8). Estos axones están distribuidos somatotópicamente hacia los núcleos cerebelosos; algunos de estos axones llegan hasta el núcleo vestibular-lateral del tronco del encéfalo. También dan origen a ramas colaterales o recurrentes, que corren longitudinalmente en la folia para llegar a las células de Golgi tipo II (Fig. 2). Su influencia sobre los núcleos cerebelosos y vestibulares es inhibitorio (Brobeck, 1983). Actualmente se sabe que el ácido gamma-aminobutírico (GABA) es el neurotransmisor liberado en las terminales de las células de Purkinje, ya sea en los ganglios cerebelosos, en los núcleos vestibulares o en las ramas colaterales recurrentes de la corteza cerebelosa (Henn y col, 1980). Se denomina a las células de Purkinje, la "vía común final" de la corteza del cerebelo, porque son las únicas fibras que realmente salen de la corteza. Aún cuando algunas de ellas llegan al tronco del encéfalo, constituyen solamente una pequeña parte de las que salen del cerebelo. La mayor parte de esta eferencia se origina en los núcleos subcorticales y se proyecta a los núcleos cerebelosos (Guyton, 1973).

FIBRAS AFERENTES A LA CORTEZA CEREBELOSA

Un tipo de fibra aferente a la corteza cerebelosa son las llamadas fibras trepadoras (FT), porque sus terminaciones parecen trepar siguiendo las dendritas de las células de Purkinje (Fig. 3) (Altman, 1972b). Muchas de ellas entran en el cerebelo desde la oliva inferior, pero otras proceden de la formación reticular. En su ascenso a través de la corteza corren a lo largo de las tres capas y llegan a la capa molecular en compañía de las dendritas de las células de Purkinje. Cada fibra trepadora es excitadora de las dendritas de una célula de Purkinje, y genera muchas conexiones con una sola célula de Purkinje, pero no sobre la superficie plana de las dendritas, sino como demostraron Larramendi y col (referido por Llinás, 1975), que dos células están en contacto sólo donde pequeñas espinas empujan en grupos desde la superficie de las dendritas de la célula de Purkinje (Fig. 3). Dean E. Hillman (referido por Llinás, 1975), ha estimado que una célula de Purkinje y una fibra trepadora están probablemente en contacto sináptico aproximadamente en 300 puntos, el cual es un número elevado de uniones que se establece entre una célula y una sola fibra aferente. Eccles y col en 1964, describieron la acción de una fibra trepadora sobre la célula de Purkinje, y encontraron que el estímulo de una fibra trepadora produce una excitación altamente poderosa sobre la correspondiente célula de Purkinje (Llinás, 1975).

Las fibras musgosas terminan en ramificaciones denominadas "rosetas" en la capa granular interna (Fig. 2). Son fibras mielínicas gruesas que penetran en el cerebelo desde los sistemas espinocerebeloso, pontinocerebeloso y vestibulocerebeloso. Son la principal aferencia excitadora al cerebelo específicamente a las células granulares. En su terminación forman una relación única con las dendritas de

las células granulares y con las dendritas y los axones de las células de Golgi tipo II, dicha relación recibe el nombre de "glomérulo cerebeloso" y está cubierto por una vaina de revestimiento glial (Brobeck, 1983). las fibras musgosas esencialmente excitan muchas células de Purkinje, pero solamente a través de pocos contactos con ellas. Estos contactos se realizan por medio de pequeñas interneuronas: las células granulares (Fig. 2 y 4) (Llinás, 1975).

CAPA GRANULAR INTERNA

Las células granulares (CGr) son relativamente pequeñas, redondas, y están muy apretadas en la capa cortical más profunda, es decir, en la capa granular interna (Gran) (Fig. 2). Poseen cuatro o cinco dendritas cortas que terminan en un penacho de ramas en un glomérulo, en relación con las terminaciones de las fibras musgosas y las prolongaciones de las neuronas de Golgi tipo II (Fig. 2). Los axones de las CGr son relativamente largos, pasan hacia el exterior del cuerpo celular hasta la capa molecular, donde se dividen y envían una rama en dirección de la folio; entonces reciben el nombre de fibras paralelas (FP) (Fig. 5). Cada rama pasa a través de los planos de arborización de las dendritas de muchas células de Purkinje (Fig. 2) (Brobeck, 1983). La CGr es la única neurona intracortical que tiene función excitadora; debido a la manera en que se distribuye su axón es capaz de excitar a centenares de neuronas de Purkinje (Brobeck, 1983).

Generalmente una fibra paralela hace contacto sinóptico con una célula de Purkinje solamente una vez, o raramente dos veces; no obstante muchas de las entradas a las células de Purkinje están a través de las fibras paralelas (Fig 4).

Se ha observado que una sola célula de Purkinje humana puede recibir tanto como 100,000 fibras paralelas (comparadas con una fibra trepadora sencilla) (Llinás, 1975).

INTERNEURONAS

Incluidas en la matriz del circuito cerebeloso existen dos grupos de interneuronas que, a diferencia de las células granulares tienen axones cortos. Uno de ellos se localiza en la capa molecular y consiste de células estrelladas (CE) y células en canasta; el otro grupo se localiza en la capa de células granulares y está representado por las células de Golgi tipo II (CG) (Fig. 2) (Llinás, 1975).

Las células estrelladas son de tamaño más pequeño que las células en canasta, y se encuentran en menor cantidad y tienen una localización más superficial que estas últimas. Las células estrelladas tienen dendritas cortas y están en conexión sináptica con las fibras paralelas (Fig. 2). Del mismo modo, sus axones son cortos y terminan sobre dendritas de células de Purkinje en sinapsis inhibitorias (Fig. 4). Las células en canasta o en cesto se encuentran en la parte más profunda de esta capa molecular. Son neuronas más grandes que las células estrelladas, y sus dendritas se hallan en contacto sináptico con las fibras paralelas. Los axones de estas células corren cierta distancia a través de esta capa con una dirección en ángulo recto con respecto al eje de la folia. Las fibras paralelas y los axones de las células en cesto por lo tanto, corren generalmente en el mismo plano pero en ángulo recto entre sí (Fig. 2). Por medio de colaterales las células en cesto hacen contacto sináptico alrededor de los cuerpos de numerosas células de Purkinje, que se encuentran en un solo plano de la folia y tienen sobre estas una función

inhibitoria (Fig. 4). Las células en cesto reciben su nombre debido a que sus terminales tienen forma semejante a la de un cesto (Brobeck, 1983).

La principal diferencia entre las células estelladas (CE) y en cesto (CC), es que las CC establecen uniones sinápticas con las células de Purkinje en la parte inferior de las dendritas y sobre el soma; mientras que las CE están mas o menos confinadas a las dendritas (Fig. 2) (Llinás, 1975).

Las células de Golgi tipo II (CG) no tienen un axón largo, aunque son células relativamente grandes, localizadas en la capa granular interna (Gran), con dendritas que se ramifican ampliamente en todos los planos de la capa molecular, donde establecen sinapsis con fibras paralelas de células granulares (Fig.2). Poseen también otras dendritas que corren en la Gran hasta hacer sinapsis con los glomérulos, donde las terminaciones en roseta de las fibras musgosas excitan simultáneamente a las dendritas de las células granulares y de las CG (Fig. 2 y 4). Esta organización significa que la CG son excitadas directamente por terminaciones de las fibras musgosas, e indirectamente por la secuencia de fibras musgosas-células granulares, llegando los dos tipos de excitación a diferentes partes del árbol dendrítico. Por último, los axones de la CG se ramifican libremente al pasar hacia los glomérulos próximos donde terminan también en relación con las dendritas de las células granulares y las rosetas de las fibras musgosas. Estas terminaciones son la única eferencia de las CG. La sinapsis es inhibitoria sobre la sinapsis excitatoria establecida por las rosetas sobre las dendritas de la célula granular. Por medio de éstos circuitos, la eferencia excitadora que llega a las dendritas de las células de Purkinje desde la combinación de fibra musgosa y célula granular, es modulada a nivel de la CGr por la

acción inhibitoria de las neuronas de Golgi tipo II, acción inhibitoria provocada por la aferencia de la fibra musgosa (Fig. 4) (Brobeck, 1983).

DESARROLLO DEL CEREBELO

En el sistema nervioso central de la rata, el cerebelo, es la estructura que desde el punto de vista ontogénico, es la que más tarde se desarrolla y completa su maduración durante la vida postnatal inmediata. Cuando inicia el desarrollo embrionario, las células germinativas primitivas (CGe) que formarán al cerebelo su fren mitosis continuas que dan lugar a multitud de clonas; una célula se divide en dos continuamente hasta alcanzar una cantidad elevada de CGe, y después de un tiempo tiempo cesará dicha multiplicación clonal (Fig. 6-A). La división que lleva a cabo la célula germinativa se denomina "mitosis de diferenciación" puesto que origina dos células diferentes denominadas neuroblastos (núcleos profundos y Purkinje). También la mitosis de diferenciación puede originar un neuroblasto y una CGe. Los neuroblastos primitivos que no se dividen más, crecen y terminan por formar células nerviosas. La multiplicación clonal destinada a formar CGe se realiza en el tubo neural, localizado hacia la parte dorsal del embrión en el endodermo (Fig. 6-B). De esta forma, las neuronas que se forman primero en el cerebelo son las células de Purkinje y las células de los núcleos profundos (Eccles, 1970; Miale y Sidman, 1961).

En el techo endodermario del cuarto ventrículo se dividen las CGe para formar una clona, inmediatamente se generan neuroblastos que darán lugar a neuronas de los núcleos centrales del cerebelo y a células de Purkinje (Fig. 6-B). Se cree, que en una mitosis de diferenciación la CGe se divide para originar a un neuro -

blasto de Purkinje (P) y a un neuroblasto de núcleo profundo (N) (Fig. 6-A). Sin embargo, existe otra posibilidad: la figura 6-B, señala el comienzo de la migración de los acúmulos de neuroblastos de células de Purkinje (NP), que se desplazan en grupo hacia arriba y se dirigen hacia su localización final en la corteza cerebelosa y deja a los acúmulos de neuroblastos de los núcleos profundos (NN) cerca de su origen. Las células de Golgi tipo II se forman unos dos días más tarde con respecto a las de Purkinje; también se forman en el ependimo primitivo y emigrarán hacia la corteza cerebelosa. Al principio del desarrollo, las CGe proliferan rápidamente principalmente las provenientes del neuroepitelio primitivo del techo del cuarto ventrículo (Miale y Sidman, 1961). Esta zona de células que proliferan rápidamente forman la copa germinativa externa o capa granular externa (CGE) que es de gran importancia en la formación de la corteza cerebelosa (Fig. 8-A). En corto tiempo, esta zona prolifera contiene varias células de espesor, de cuatro a cinco en los primeros ocho días postnatales en la rata (Fig. 3) (Eccles, 1970; Altman, 1972b). Al terminar la proliferación clonal de las CGe un día o dos después del nacimiento, aparece un nuevo acontecimiento: en lugar de la multiplicación clonal de las CGe, algunas de estas células sufren mitosis de diferenciación dando lugar a neuroblastos. Este fenómeno toma fuerza, de manera que después del octavo día postnatal de la rata más de la mitad de la capa granular externa se compone de neuroblastos que forman la capa premigratoria (Fig. 3 y 5) (Eccles, 1970; Altman, 1972b). La figura 5 explica el concepto de capa premigratoria. Dicha figura representa la disposición aproximada al décimo día postnatal en la rata. En la cubierta externa hay unas cinco capas de CGe en proliferación. En la parte izquierda, las pequeñas células irregulares (a), son los

neuroblastos que producen células granulosas (NGr). Se identifican porque se tienen en forma distinta, y emiten dos pequeñas prolongaciones que se desarrollan rápidamente en direcciones opuestas a partir del soma celular a lo largo de la lámina, como se observa en el neuroblasto (b). Este es el inicio de las fibras que crecen muy rápidamente y en paralelo, estas son las llamadas fibras paralelas (Altman, 1972a). Cuando las dos prolongaciones del cuerpo celular de la CGr, han alcanzado su tamaño normal, el soma se dirige hacia abajo y sigue su camino entre las fibras paralelas más profundas (ver NGr: e, f y g de la figura 5) por debajo de la capa de células de Purkinje (Pk) (que ya han subido desde su origen más profundo, véase la figura 6-B, flechas). Estos NGr, cuando ya están localizados por debajo de la Pk se agrupan con las prolongaciones de las fibras musgosas. Al principio de su descenso pueden ir guiadas hacia abajo, al seguir los arboles dendríticos de la célula de Purkinje y la orientación de las células gliales de Bergman (Fig. 3). Cuando ya está por debajo de la Pk, el NGr desarrolla una serie de botones (Fig. 5-i), persistiendo unos pocos al final. De esta forma quedan bien formadas las células granulares. Mientras tanto, las fibras musgosas aparecen y hacen contacto sináptico con las dendritas de las células granulares (Fig. 2). En el lado derecho de la figura 5, se observa que en la superficie están las mismas capas de CGr. Por debajo de estas capas de CGr, se observan dos neuroblastos de células estrelladas (NE), con sus dendritas que se ramifican desde un polo y el axón desde el otro polo. La orientación general es perpendicular a la longitud de la lámina y a las fibras paralelas que se observan en la parte izquierda de la figura. En el extremo derecho se observa una célula en canasta (CC) ya en su posición normal. Se desarrolló tiempo antes, pero es del mismo

tipo de las células estrelladas; ambas son interneuronas inhibitorias de las células de Purkinje y sus axones se desarrollan perpendicularmente a la lámina. Estos axones se prolongan hasta las células de Purkinje, que finalmente crecerán al penetrar en la zona superior de la capa molecular (Eccles, 1970).

Con el uso de técnicas de autoradiografía se pueden determinar las fechas de origen de los neuroblastos. Esto se lleva a cabo con una inyección de ³H-timidina, que marca todos los neuroblastos que se forman unas pocas horas después de la inyección. Los neuroblastos que ya estaban formados varias horas después de la inyección, tienen una señal muy diluida, que se forma de un clono CGe, que se dividieron una o más veces después del marcaje. La figura 6-C, señala el número de células marcadas que se observan en la rata adulta después de administrar el compuesto marcado a los 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16 días después del nacimiento. El número de células granulares (CGr) intensamente marcadas es máximo a los 13 días, lo que indica que es aproximadamente cuando tiene lugar la máxima generación de células. Hay indicios de generación desde los dos días de edad postnatal, pero a los 30 días ya ha terminado. La actividad mitótica de la capa granular externa termina aproximadamente al vigésimo día postnatal. El clono de células germinativas termina con la transformación a neuroblastos por mitosis de diferenciación. Es importante marcar, que el mismo clono de CGe da origen a neuroblastos de dos especies distintas de células: una excitadora (célula granular) y otras inhibitorias (célula estrellada y en canasta). Hecho similar al origen de las células de Purkinje y a los núcleos profundos (Fig. 6-A). En la figura 5 se observan dos células primitivas de Purkinje con su axón dirigido hacia abajo que pronto estará en posición para establecer contacto sináptico con las células de

los núcleos profundos (Fig. 2) (Eccles, 1970).

Altman en 1972, resume la maduración de la corteza cerebelosa de la rata, en períodos críticos a los 3, 7, 12, 15 y 21 días después del nacimiento (Fig. 3). La figura 3 nos señala el desarrollo de la célula de Purkinje desde la forma primitiva (3 días), hasta la forma casi madura (21 días) con las dendritas sumamente ramificadas. Se observa un cambio a nivel del soma y las dendritas de las células de Purkinje: la sinapsis de la fibra trepadora (FT) con las espinas somáticas de la célula de Purkinje a los siete días y el desplazamiento de esta sinapsis hacia arriba, cuando las dendritas somáticas de las células de Purkinje han desaparecido. Las sinapsis anteriores son sustituidas por las sinapsis de la célula en canasta sobre el soma de la célula de Purkinje y por la sinapsis de la célula estrellada sobre las dendritas de la célula de Purkinje. Las células granulares formadas al séptimo día establecen sinapsis de las fibras paralelas con las células de Purkinje hasta el día 15 de edad postnatal (Altman, 1972b).

FISIOLOGIA DE LA CORTEZA CEREBELOSA

El circuito neuronal de la corteza cerebelosa.

Como hemos visto, la unidad funcional de la corteza cerebelosa son las células de Purkinje (Guyton, 1979; Llinás, 1975). Según se indica en la figura 2, la salida de la unidad funcional proviene de una célula de núcleo profundo. Sin embargo, estas células se hallan continuamente bajo la influencia de estímulos excitadores e inhibitorios. La influencia excitadora proviene de conexiones directas con fibras aferentes que entran en el cerebelo (Fig. 4). Las influencias inhibitorias provienen totalmente de las células de Purkinje de la corteza cerebelosa. Los ingre -

Los aferentes para el cerebelo son dos: la fibra trepadora y la fibra musgosa. Ambos tipos de fibras excitan las células nucleares profundas y también las células de Purkinje. Sin embargo, las células de Purkinje son inhibitorias. Normalmente existe un equilibrio continuo entre estos dos tipos de efectos: excitación e inhibición, de manera que el grado de salida desde los núcleos profundos se conserva relativamente constante. Por otra parte, al ejecutar movimientos motores rápidos, la "cronología" de los dos efectos sobre los núcleos profundos, es tal que, la excitación aparece antes que la inhibición. También el equilibrio relativo entre excitación e inhibición probablemente cambie. En esta forma, señales transitorias muy rápidas excitatorias e inhibitorias, de breve duración, pueden introducirse en forma de "retroalimentación" hacia las vías motoras para corregir movimientos que están produciéndose en forma inadecuada. Las porciones inhibitorias de estas señales se parecen a señales de retroalimentación negativa de retraso, del tipo que resulta muy eficaz, para amortiguamiento. En otras palabras, cuando el sistema motor es excitado, se produce una señal de retroalimentación negativa después de un breve período para interrumpir el movimiento muscular de manera que no sobrepase la meta buscada, lo cual sería causa de oscilación (Guyton, 1979).

Función del cerebelo en los movimientos voluntarios.

El cerebelo sólo actúa en actividades motoras iniciadas en otras partes del sistema nervioso central. Estas actividades pueden provenir de médula espinal, de la formación reticular de ganglios basales o de zonas motoras de la corteza cerebral. En la figura 7, se muestran las principales vías cerebelosas que contribuyen en el control de los movimientos voluntarios. Cuando la corteza cerebral manda impulsos motores hacia abajo por los haces piramidales y extropiramidales para excitar

Función "amortiguadora" del cerebelo. Temblor intencional.

Para entender el término "amortiguador", hay que partir de que todos los movimientos del cuerpo son "pendulares". Por ejemplo, al mover un brazo aparece una inercia que debe vencerse para que el movimiento pueda ser detenido. Debido a la inercia, todos los movimientos pendulares tienden a pasar del propósito inicial. De esta forma, una persona con el cerebelo destruido no tendrá dicho control y pasará del punto que quiere detenerse y a esto se le llama temblor de acción o temblor intencional (Guyton, 1979).

Función de predicción del cerebelo. Dismetría.

El mecanismo cerebeloso de retroalimentación, ayuda al sistema nervioso central a predecir las posiciones futuras de todas las partes móviles del cuerpo. En ausencia del cerebelo, esta función de predicción es tan pobre, que las partes móviles del cuerpo se desplazan mucho más allá del punto deseado. Esta incapacidad para controlar la distancia que recorren las distintas partes del cuerpo se llama dismetría (Guyton, 1979).

Fracaso de la progresión de movimientos. Suave ataxia.

Una de las características más importantes de la función motora normal es la capacidad de pasar de un movimiento a otro en sucesión ordenada. Cuando se altera la función del cerebelo y se pierde la capacidad subconsciente de saber por adelantado cuán rápidamente las diferentes partes del cuerpo se van a mover, también se vuelve imposible controlar el inicio del movimiento siguiente. El resultado es que los movimientos sucesivos pueden empezar demasiado pronto ó demasiado tarde, en otras palabras no hay coordinación de los movimientos, y a esto se le define como suave ataxia (Guyton, 1979).

Funciones extramotoras predictoras del cerebelo.

Gracias al cerebelo, se puede predecir la intensidad de progresión de fenómenos tanto auditivos como visuales. Así, una persona según los cambios visuales, puede predecir con que rapidez se está acercando a un objeto. Así, al extirparse a un mono el cerebelo, el animal choca contra la pared de su jaula (Guyton, 1979).

Función del cerebelo en los movimientos involuntarios.

El mecanismo es parecido al de los movimientos voluntarios, solo que las señales extrapiramidales originadas en los ganglios basales en la formación reticular para producir movimientos involuntarios, pasan principalmente a la oliva inferior, y de allí al cerebelo, básicamente al paleocerebelo. Luego, al tener lugar el movimiento muscular llega al cerebelo la información propioceptiva de los músculos, articulaciones y otras partes de la periferia corporal, con lo que se logra el mismo tipo de control de error para los movimientos involuntarios que para los voluntarios. Las señales luego posan del cerebelo, regresando de nuevo a la corteza motora, ganglios basales y formación reticular (Guyton, 1979).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En varias especies de mamíferos como la rata y el ratón se han estudiado la histología de la corteza cerebelosa, y se conoce ampliamente la histología de ésta región del sistema nervioso central con gran precisión, tanto en el recién nacido como en el adulto. Ahora bien, los cuyos siendo un animal de laboratorio muy utilizado no se ha estudiado la histología de la corteza cerebelosa con la misma precisión y debido a su precocidad, el cerebelo del recién nacido debe mostrar características diferentes de otras especies.

HIPOTESIS

La corteza cerebelosa en cuyos recién nacidos es diferente a la de adultos.

OBJETIVOS

- A) Describir la histología de la corteza cerebelosa en cuyos (Cavia porcellus) recién nacidos y adultos.
- B) Determinar las diferencias entre la corteza cerebelosa del cuyo recién nacido y el adulto

MATERIAL Y METODOS

Se obtuvieron los cerebelos de tres cuyos (Cavia porcellus) recién nacidos y los de tres adultos, fijados por perfusión intracardíaca. Los animales recién nacidos tuvieron un peso promedio de 94 g y los de adultos de 520 g (dichos animales fueron proporcionados por Laboratorios ANCHOR). Para la perfusión (F. González y col, 1963), previa anestesia con pentobarbital (0.1 ml/100 g de peso corporal), se practicó la toracotomía, bañando constantemente los órganos con solución Ringer (Tabla I), para evitar la coagulación de la sangre. En seguida se pinzaron la vena cava y la aorta abdominal (para evitar la fijación de todo el animal); después se insertó el cateter en el ventrículo izquierdo y se cortó la aurícula derecha e inmediatamente se hizo pasar solución Ringer para lavar el sistema circulatorio durante 12 minutos. En seguida se fijó con solución Bouin (Tabla II) durante 15 minutos. Extraído el cerebelo se le efectuó un corte sagital y se dejó en solución Bouin durante 24 horas. Pasado este tiempo se deshidrató con etanol y se impregnó e incluyó en parafina (Lee G, 1968). Los cortes de 1 μ m de espesor se obtuvieron en un microtomo de rotación Leitz.

Los cortes se extendieron en un baño de flotación con agua destilada a una temperatura de 45-50 °C. Los mejores cortes se montaron en un portaobjetos, los cuales previamente se habían impregnado con albúmina. Posteriormente previa marca, las laminillas se colocaron en un horno a 66 °C para desparafinar el tejido. Preparadas las laminillas, una serie se tiñó con Hematoxilina-Eosina (H-E), otra con la técnica de Klüver-Barrera, y otra con la técnica de Spicer para ácido nucleico (Lee G, 1968).

Los cortes se observaron y fotografiaron en un fotomicroscópio Zeiss Fomi III,

para la evaluación de los cortes de la corteza cerebelosa.

Para obtener esquemas de los cortes histológicos, se proyectaron dichos cortes con la ayuda de un proyector para transparencias, y la imagen obtenida se dibujó manualmente sobre papel bond. La ampliación de los cortes histológicos de la vermis del cerebelo del cuyo recién nacido y del adulto fué la misma.

Se utilizaron cinco fotomicrografías de la corteza cerebelosa de cada animal, tanto del recién nacido como del adulto. En el caso del recién nacido se midió el espesor de la capa molecular y el de la capa granular externa. Para esto, sobre la fotomicrografía se trazaron líneas perpendiculares a la pia cada centímetro, sobre esa línea se midió el espesor de la capa molecular desde la parte más apical de las células de Purkinje hasta la pia (en el adulto), o bien, hasta la parte inferior de la granular externa (en el recién nacido). Adicionalmente se determinó el diámetro menor de las células de Purkinje. Dicho diámetro (30 o más células de cada animal), se determinó sobre las fotomicrografías con una lupa con escala. Para el cuyo adulto únicamente se determinó el espesor de la capa molecular y el diámetro menor de las células de Purkinje.

Se determinó además de cada animal el número y posición de nucleolos en 100 células de Purkinje.

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de "t" student.

RESULTADOS

Observación macroscópica del cerebelo:

El cerebelo del cuyo recién nacido se observó similar al del adulto, excepto en el tamaño y en la morfología de la corteza cerebelosa, ya que en el adulto se observó de tamaño mayor el cerebelo y careciendo de la capa granular externa (Fig. 8).

Observación microscópica del cerebelo. Corteza cerebelosa:

En cortes gruesos de 1 μm de espesor, teñidos con la técnica de H-E, Klüver-Barrera y el método de Spicer para ácido nucleico, se confirmó el patrón estructural típico de la corteza cerebelosa de los mamíferos. En el caso del cuyo recién nacido en la corteza cerebelosa se observó: 1) la capa granular externa (CGE), con un espesor muy inferior al que presentan otros mamíferos como lo es la rata blanca. 2) la capa molecular (Mol) se observó con el árbol dendrítico de las células de Purkinje y el soma de las células estrelladas y en canasta. 3) en el caso de la capa de células de Purkinje (Pk) en general fué una monocapa de células y en ocasiones se presentaron algunas células de Purkinje fuera de esta línea, es decir, en la capa molecular (Fig. 9). Las dendritas de las células de Purkinje se observarán extensas y gruesas, orientadas hacia la capa molecular. 4) En la capa granular interna (Gran) hubo una alta concentración de células granulares en todos los lóbulos. También se observaron las células de Golgi tipo II.

En el cuyo adulto (Fig. 10), la organización celular fué la misma que la del recién nacido, excepto la ausencia de la capa granular externa. Además se presentó con menor frecuencia el hecho de que las células de Purkinje se localizaran

fuera de la línea de la capa de células de Purkinje, es decir en la capa molecular. Además el árbol dendrítico de las células de Purkinje, se observó más claro y ramificado en el cuyo adulto que en el recién nacido.

En la figura 11 podemos apreciar la diferencia en espesor de la capa molecular y el diámetro menor de las células de Purkinje entre el cuyo recién nacido y el adulto, la correspondiente al cuyo adulto en ambos casos es de mayor tamaño, según lo comprueba el análisis estadístico (Tabla III).

Se observó una diferencia en cuanto a la forma de las células de Purkinje entre el cuyo recién nacido y el adulto. En la figura 9, se muestra los de los primeros una forma variada: esféricas, pentagonales, irregular, huso y periforme. En la figura 10 podemos observar una forma más constante, la forma de pera (periforme), que es la de una célula de Purkinje adulto.

El citoplasma de todas las células mencionadas anteriormente se tiñen de diferente forma de acuerdo a la técnica utilizada.

Tanto el cuyo recién nacido como en el adulto, el núcleo de las células de Purkinje se localiza generalmente en la región media, aunque en ocasiones se encuentra en la porción apical de la célula, y muy raras veces se localiza en la porción basal de las células; se distinguen de 1 a 2 nucleolos, cuya localización varía: unos en la porción media (la mayor parte, Fig 9, 10, 11A y 11B) y otros muy próximos a la envoltura nuclear (células atípicas de Purkinje, Fig 12). El análisis estadístico mostró que existe una diferencia significativa entre el cuyo recién nacido y el adulto en cuanto al número de nucleolos y su posición en el núcleo, siendo mayor la frecuencia de 1 nucleolo en el cuyo adulto; de 2 nucleolos en el recién nacido; y en el caso de las células atípicas de Purkinje fué mayor la

frecuencia en el adulto que en el recién nacido (Tabla IV).

En el presente estudio se observó que el 100% de los recién nacidos de la zona de estudio via paracetamol para el tratamiento de la fiebre.

En la figura 1 se muestra el porcentaje de recién nacidos que se administró paracetamol para el tratamiento de la fiebre.

El estudio de la frecuencia de uso de paracetamol en recién nacidos de la zona de estudio se realizó en un hospital de la zona de estudio. Se observó que el 100% de los recién nacidos de la zona de estudio se administró paracetamol para el tratamiento de la fiebre.

Se puede observar que el 100% de los recién nacidos de la zona de estudio se administró paracetamol para el tratamiento de la fiebre.

Se puede observar que el 100% de los recién nacidos de la zona de estudio se administró paracetamol para el tratamiento de la fiebre.

Se puede observar que el 100% de los recién nacidos de la zona de estudio se administró paracetamol para el tratamiento de la fiebre.

ANALISIS DE RESULTADOS

Las observaciones estructurales que hemos efectuado de la corteza cerebelosa del cuyo; están basadas en el análisis del material fijado con solución Bouin mediante el procedimientos de perfusión. Este procedimiento de fijación nos da una adecuada preservación estructural y nos proporciona una gran cantidad de datos, comparados con los que podemos obtener utilizando el procedimiento de inmersión, aún utilizando la misma solución fijadora. González y col (1963) usan el método de perfusión con buenos resultados.

En el presente trabajo se demuestra que la corteza cerebelosa en cuyos (Cavia porcellus) recién nacidos es diferente al del adulto. Como se puede apreciar en la figura 8-A y en la figura 9, el cerebelo del cuyo recién nacido presenta la capa granular externa (CGE), capa que no se observa en el adulto (Fig. 8-B y 10) además de ésta diferencia, en la figura 8-B se observa que los lóbulos de la folia son de mayor tamaño que los del recién nacido. Además de que las fisuras se observan más profundas en el adulto. Estos resultados demuestran el desarrollo estructural que ha efectuado la corteza cerebelosa a partir del recién nacido hasta el adulto.

Se puede observar en la figura 9, que el espesor de la capa granular externa del cuyo recién nacido es inferior al de otros mamíferos. Esto explicaría en parte la precisión de movimiento del cuyo recién nacido; que además ya nace con pelo, con dientes, con los ojos abiertos, y puede comer alimento sólido, en otras palabras puede subsistir sin la madre, como lo ha observado Harkness (1980). También observamos en la corteza del cuyo recién nacido, que la capa de células de Purkinje

en ocasiones se presentaron algunas células de Purkinje fuera de ésta línea, es decir en la capa molecular (Fig. 9). Fenómeno similar observó Altman y col en 1973 al irradiar con rayos X el cerebelo de la rata cuatro días después del nacimiento. Es to lo explica Altman mencionando que existe una precondición de la dispersión mo laminar de las células de Purkinje durante los primeros días después del nacimiento, y es la rápida expansión del área superficial de la corteza cerebelosa, la cuál provee el espacio para el acomodamiento del gran número de células de Purkinje, las cuales, al nacer el animal (rata), se encuentran distribuidos a través de la profundidad de la corteza (Fig. 6-B). Altman y Anderson en 1972, atribuye la expansión rápida de la su perficie cortical durante éste período, al gran incremento poblacional de las células de la zona proliferativa de la CGE. Esta zona se compone de una capa de células de profundidad constante (Altman, 1972a). La acomodación de ésta capa en crecimiento requiere la expansión y doblez de la superficie de la corteza antes de que la diferen ciación de la células corticales haya comenzado y cuando relativamente ha ocurrido un pequeño crecimiento volumétrico en el cerebelo. Si la CGE es destruida por irra diación de rayos X, ésta expansión de la superficie cortical no se efectúa; lo mismo sucede en la dispersión de células de Purkinje, cuando la irradiación del cerebelo se ha realizado en el nacimiento (Altman y Anderson, 1972).

Como se muestra en la figura 11-A y 11-B, existe una diferencia en espesor de la capa molecular y el diámetro menor de las células de Purkinje entre el cuyo recién nacido y el adulto. El análisis estadístico (Tabla III) de dicha diferencia, mos tró que existe una diferencia significativa, tanto en el espesor de la capa molecular como en el diámetro menor de las células de Purkinje, siendo mayor el espesor y el diámetro menor de las células de Purkinje en el adulto. En el caso de la Mol.,

se atribuye por la ausencia de la capa granular externa en el adulto; y en el caso del diámetro menor de las células de Purkinje por el desarrollo y crecimiento que han sufrido las células (Altman, 1972b).

La diferencia en cuanto a las células de Purkinje entre el cuyo recién nacido y el adulto, también se atribuye al desarrollo y crecimiento del cerebelo que se ha efectuado entre el recién nacido y el adulto. Al igual el hecho de que el árbol dendrítico de las células de Purkinje fuera mas claro y ramificado en el adulto (Altman 1972b).

Hemos encontrado células de Purkinje similares a las que describe La Velle (1983) (utilizando las técnicas de tinción de H-E, Klüver-Barrera y la de Spicer para ácido nucleico), las cuales presentan uno o dos nucléolos localizados periféricamente y en contacto con la envoltura nuclear de las células (Fig. 12). La Velle en 1983, llama a éstas células, células atípicas de Purkinje (AP). A diferencia de las AP que describe La Velle en el hamster dorado (en el cual en nucléolo se observa pálido), las he encontrado en el cuyo, con el nucléolo del mismo tono que las células de Purkinje típicas. Se atribuye a ésta anomalía de las células de Purkinje (CP) a procesos degenerativos, aún status de maduración o a artificios de fijación, pero otros pueden tener una base funcional (La Velle, 1983). Las células atípicas de Purkinje que se observan en el hamster dorado adulto, presenta características de células inmaduras que están pasando por etapas tempranas de su fase de crecimiento rápido, por ejemplo, los múltiples nucléolos y segmentos de la envoltura nuclear, altamente invaginados o con depresiones. La envoltura nuclear doblada presenta también características de neuronas motoras que están pasando por la reacción del axón. En otro caso, éstas características nucleares están consideradas a

reflejar una síntesis acelerada en las neuronas especialmente activas en producir proteínas para el crecimiento o para reparar. Además, las AP no tienen un cuerpo intranucleolar. Este cuerpo contiene gránulos, los cuales probablemente son de naturaleza preribosomal; éstos gránulos se encuentran en las células de Purkinje típicas y en muchos tipos de neuronas multipolares maduras, a través del sistema nervioso central del hamster. Si están ausentes éstos gránulos durante el crecimiento somal acelerado y durante una cromatolisis seguida de un daño, en ambos casos, son períodos de una actividad sintética incrementada. Si están ausentes éstos gránulos en las AP, también sugieren una actividad metabólica relativamente alta (La Velle, 1983). El estudio estadístico mostró que existe una diferencia significativa en la presencia de casos de células AP entre el cuyo recién nacido y el adulto, la correspondiente al adulto fué mayor (Tabla 1V). Otro hecho que observamos fué la presencia de nucleolos en la porción media del núcleo en muchas células, siendo en el recién nacido el mayor número de casos, como lo demuestra el análisis estadístico (Tabla 1V). Esto puede ser debido a la gran actividad sintética de proteínas para el crecimiento o reparación.

CONCLUSIONES

La corteza cerebelosa del cuyo recién nacido es diferente a la del adulto porque :

- 1.- El adulto no presenta la capa granular externa que en el recién nacido sí se presenta.
- 2.- El espesor de la capa molecular en el adulto es mayor a la del recién nacido, así como el diámetro menor de las células de Purkinje, aunque el recién nacido ya presenta un arreglo celular similar al del adulto.
- 3.- La forma de las células de Purkinje en el recién nacido es variado, y en el adulto es más bien constante, en forma de pera (piriforme).
- 4.- El árbol dendrítico de las células de Purkinje fué más claro y ramificado en el adulto.
- 5.- Las células de Purkinje con dos nucleolos se encontraron con mayor frecuencia en el recién nacido ($P < 0.001$).
- 6.- La presencia de células atípicas de Purkinje fué mayor en el adulto ($P < 0.001$).

ABREVIATURAS

| | |
|------|---|
| AP | célula atípica de Purkinje |
| C | sinapsis de célula en cesto o canasta |
| CC | célula en canasta |
| CE | célula estrellada |
| CG | célula de Golgi tipo 11 |
| CGe | célula germinativa |
| CGE | capa granular externa |
| CGr | célula granular |
| CP | célula de Purkinje |
| E | sinapsis de célula estrellada |
| e | espinas dendríticas de una célula de Purkinje |
| FM | fibra musgosa |
| FP | fibra paralela |
| FT | fibra trepadora |
| Gran | capa granular interna |
| Mol | capa molecular |
| N | neuroblastos de núcleos profundos |
| NE | neuroblastos de células estrelladas |
| NG | neuroblastos de células granulares |
| NN | acúmulos de neuroblastos nucleares |
| NP | acúmulos de neuroblastos de Purkinje |
| P | neuroblastos de células de Purkinje |

Pk

capa de células de Purkinje

Sb

substancia blanca

PLAAS Y FIG. 10

ESQUEMAS Y FIGURAS

TABLA I. SOLUCION RINGER (LAVADORA)

| | | |
|---------------------------|--------|-----------------|
| NaCl | - 0.17 | M - 94 vols. |
| KCl | - 0.15 | M - 4 " |
| KH_2PO_4 | - 0.15 | M - 4 " |
| MgSO_4 | - 0.15 | M - 1 " |
| Na_2HPO_4 | - 0.10 | M - 13 " |
| NaHCO_3 | - 0.15 | M - 14 " |
| | | <u> </u> |
| | TOTAL | 127 vols. |
| HEPARINA | - 0.55 | ml/l |
| PROCAINA | - 0.55 | mg/l |

TABLA II. SOLUCION BOUIN (FIJADORA)

| | |
|--|---------|
| Acido pícrico saturado (sol. acuosa) | 750 ml. |
| Formalina 37-40% | 250 ml. |
| Ac. Acético glacial | 50 ml. |

TABLA III. ESPESOR DE CAPA GRANULAR EXTERNA, CAPA MOLECULAR Y DIAMETRO MENOR DE LAS CELULAS DE PURKINJE DE CUYOS REGIEN NACIDOS Y ADULTOS.

| | E S P E S O R | | D I A M E T R O |
|-----------------|------------------|--------------------|--------------------|
| | GRANULAR EXTERNA | MOLECULAR | CELULA DE PURKINJE |
| * RECIEN NACIDO | 13.79 \pm 3.45 | 152.51 \pm 25.52 | 17.40 \pm 1.69 |
| + ADULTO | ————— | 203.78 \pm 31.79 | 20.26 \pm 1.63 |

Los datos se expresan en μm e indican la media \pm desviación standar.

* n= 15

+ n= 13

(Recién nacido vs. adulto, $P < 0.001$)

TABLA IV. NUMERO Y POSICION DE LOS NUCLEOLOS EN LAS CELULAS DE PURKINJE DE LOS CUYOS RECIEN NACIDOS Y ADULTOS

| | 1 NUCLEOLO | 2 NUCLEOLOS | CELULA ATIPICA DE PURKINJE |
|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------------------|
| * RECIEN NACIDO | 76.66 \pm 3.78 | 23.33 \pm 3.78 | 1.66 \pm 2.08 |
| + ADULTO | 83.33 \pm 10.01 | 11.00 \pm 10.44 | 4.00 \pm 1.00 |

Los datos se expresan en μm e indican la media \pm desviación standar.

* n= 3 animales, 100 células cada uno.

+ n= 3 animales, 100 células cada uno.

(Recién nacido vs. adulto, $P < 0.001$).

Fig. 1.- Localización del cerebelo dentro del sistema nervioso central. Al cerebelo se le ha efectuado un corte sagital a nivel de la vermis. El patrón de las folias corticales es el llamado "árbol vitae" (Modificado de Llinás, 1975).

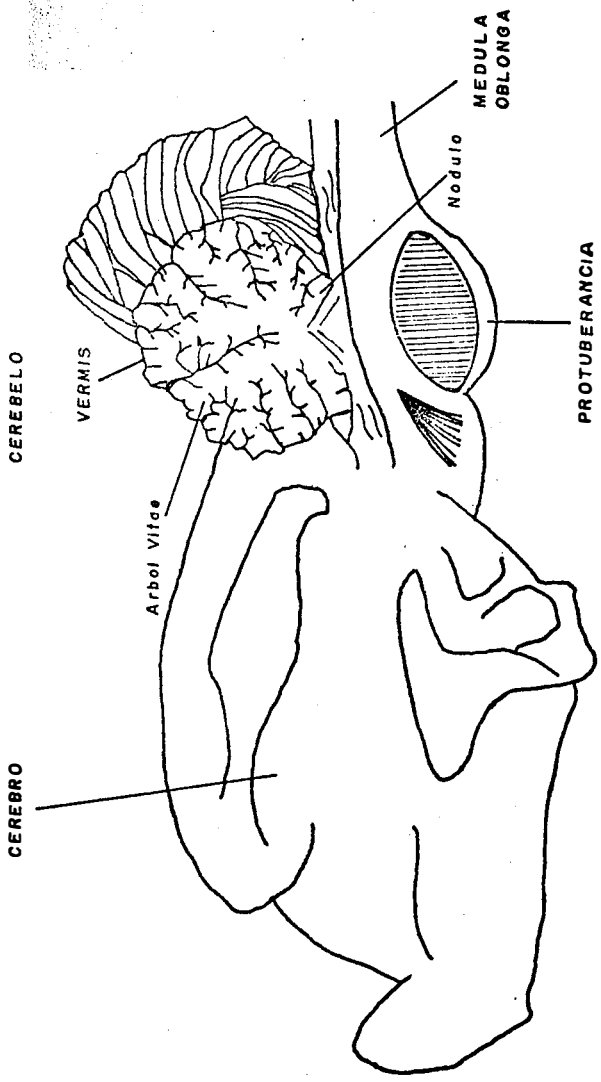


Fig. I

Fig. 2.- Dibujo en perspectiva de una sección de una folia cerebelosa.

(CP) células de Purkinje; (CG) células de Golgi tipo II; (CC) células en canasta; (CGr) células granulares; (CE) célula estrellada; (FT) fibras trepadoras; (FM) fibras musgosas; (e) espinas dendríticas de las células de Purkinje; (Mol) capa molecular; (Pk) capa de células de Purkinje; (Gran) capa granular interna; (Sb) sustancia blanca. (Modificado de Llinás, 1975).

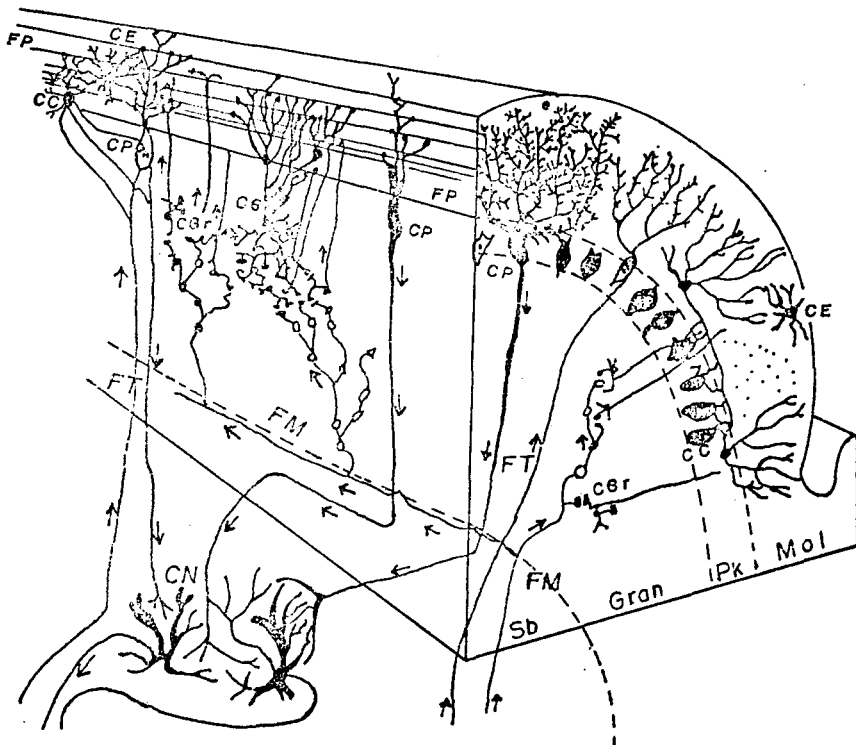


FIG. 2

Fig. 3.- Esquema de maduración de una célula de Purkinje de rata y conexiones sinápticas sobre la misma. Se indican cinco etapas de desarrollo a los días tres, siete, doce, quince y veintiuno postnatales. Se observan las fibras trepadoras (FT), trepando sobre las dendritas de las células de Purkinje, se observan también las células granulares (*); las células en canasta (C) y células estrelladas (E) del día siete al veintiuno. Se señalan cuatro células granulares con sus fibras paralelas según sus días de origen (Según Altman, 1972b).

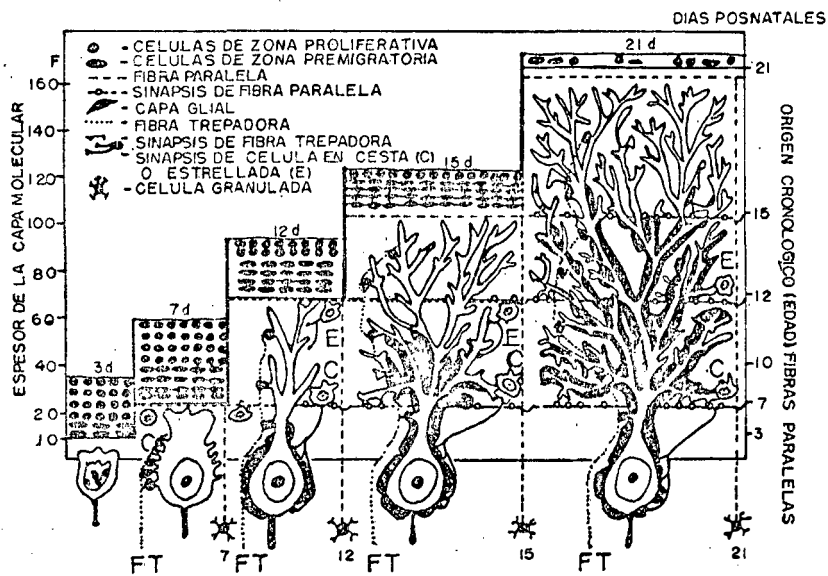


FIG. 3

Fig. 4.- Diagrama esquemático de "alambrado" de la corteza cerebelosa y los centros del cerebelo con los cuales se comunica la estructura de los circuitos célula-nervio con su función. Los tipos de células y sinapsis se especifican en la clave de la parte inferior izquierda. La señal de entrada a la corteza cerebelosa es a través de la fibra trepadora y musgosa, las cuales también tienen ramificaciones hacia el núcleo cerebelar. En la corteza, ambas fibras actúan sobre las células de Purkinje; además la respuesta de estas células está influenciada por tres tipos de interneuronas, todas ellas inhibitorias (canasta, estrellada y célula de Golgi tipo II). Dado que la célula de Purkinje es inhibitoria, también su efecto sobre el núcleo cerebelar es prevenir la transmisión de impulsos nerviosos desde las fibras trepadoras y musgosas que pudieran llegar a las neuronas motoras y causar movimiento. De esta forma la corteza cerebelosa parece ser un órgano de regulación con poder para seleccionar ciertos órdenes motoras para que se transmitan y asimismo para bloquear todas las demás (Según Llinás, 1975).

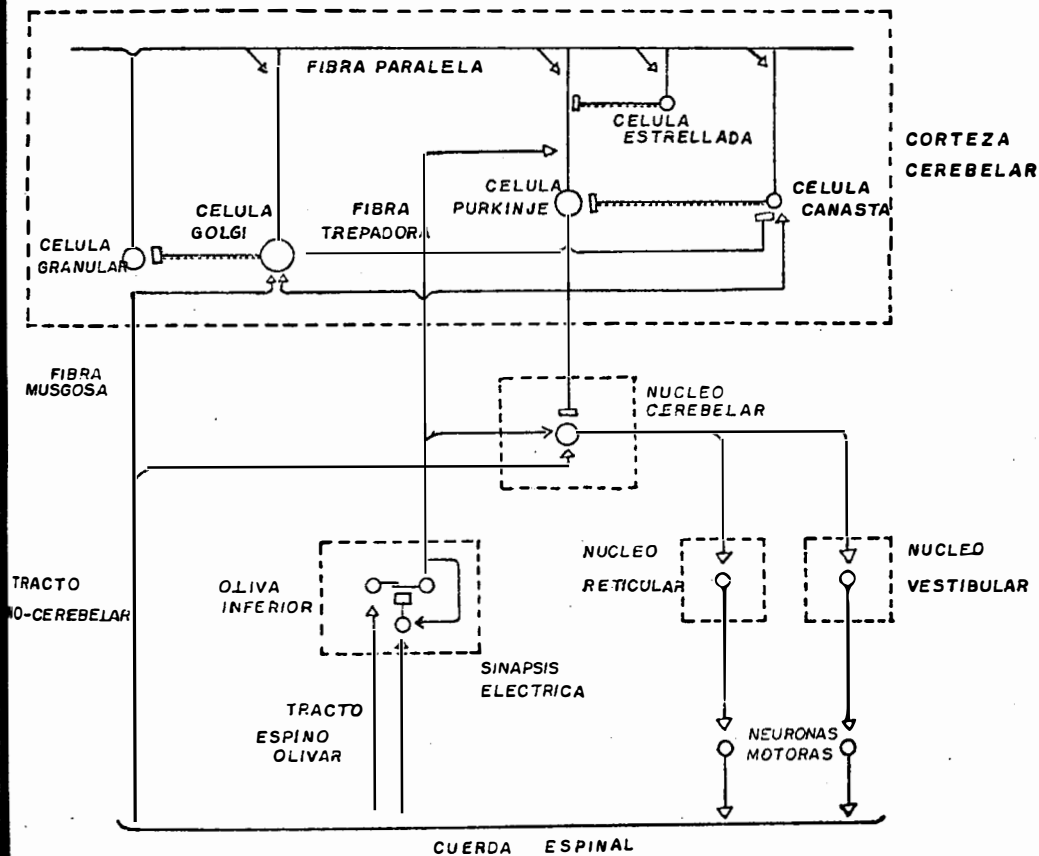


Fig. 5.- Esquema en perspectiva compuesto con varios dibujos de Ramón Cajal para mostrar las etapas de la neurogénesis y morfogénesis de la corteza cerebelosa a lo largo de la lámina (izquierda) y a través de la misma (derecho); corresponde al décimo día postnatal de la rata. (NGr) neuroblastos de células granulares; (CGr) células granulares; (NE) neuroblastos de células estrelladas; (C) células en canasto; (CP) células primitivas de Purkinje (Eccles, 1970).

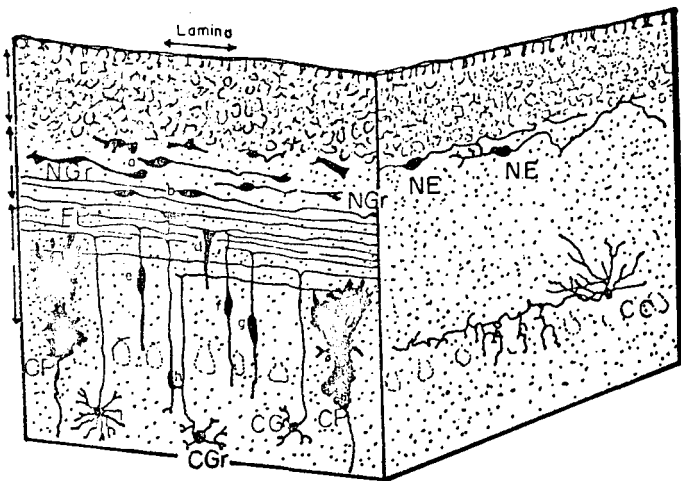


FIG. 5

Fig. 6.- Neurogénesis de las células de Purkinje y de núcleos profundos del cerebelo de ratón. Neurogénesis de las células granulares, células en canasta y células estrelladas de la corteza cerebelosa en la rata.

- (A) Esquema clonal que muestra el origen de los neuroblastos de núcleos profundos (N) y de Purkinje (P) a partir de las células germinales (CGe) del epéndimo de los días undécimo a décimo tercero de embrión de ratón.
- (B) Muestra acúmulos de neuroblastos nucleares (NN) y de Purkinje (NP) definidos por marca radioactiva en el día undécimo embrionario observados 4 días más tarde.
- (C) Diagrama clonal para la progenie de una célula germinativa simple de la capa granular externa de una rata, los días posnatales indicados en la escala de la izquierda. Las CGe se muestran con una estrella central. Los neuroblastos que forman las células granulares están indicados con círculos abiertos, mientras que los que forman los CC y las CE se indican con círculos grandes y círculos pequeños respectivamente. De hecho, la tasa de multiplicación debería ser al menos el doble de lo que se representa, y la producción de CGr debería ser relativamente mayor a las CC y CE.
- (D) Esta parte del diagrama es un dibujo en perspectiva del desarrollo de varios neuroblastos. Los neuroblastos de las células granulares (excitadoras) muestran su crecimiento en un arreglo paralelo, como en el lado izquierdo de la figura 5. Los neuroblastos de las células en canasta y estrelladas (inhibitorias) muestran su crecimiento en un arreglo ortogonal, como en el lado derecho de la figura 5. (A y B según Miale y Sidman, 1961. C y D según Eccles, 1970).

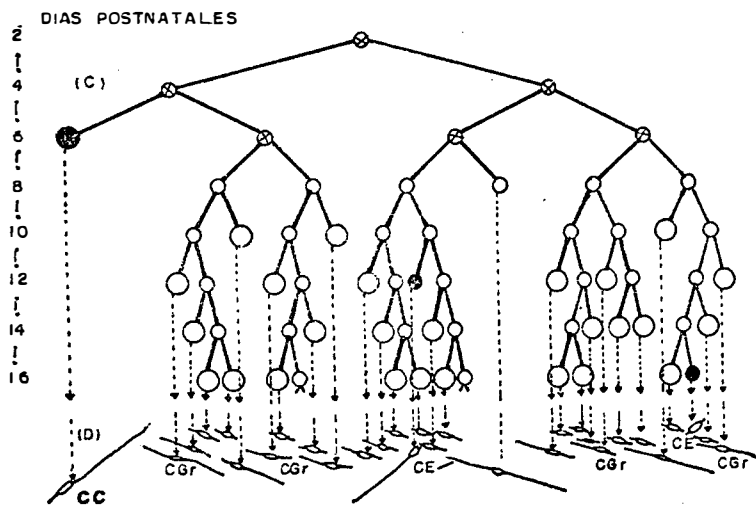
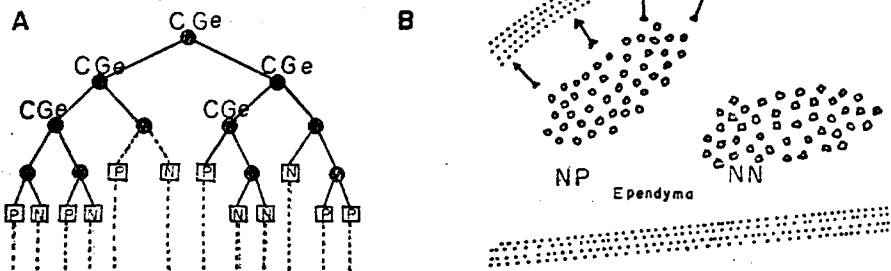


FIG. 6

Fig. 7.- Vías asociadas con el control de "error" de los movimientos voluntarios por el cerebelo (Según Guyton, 1979).

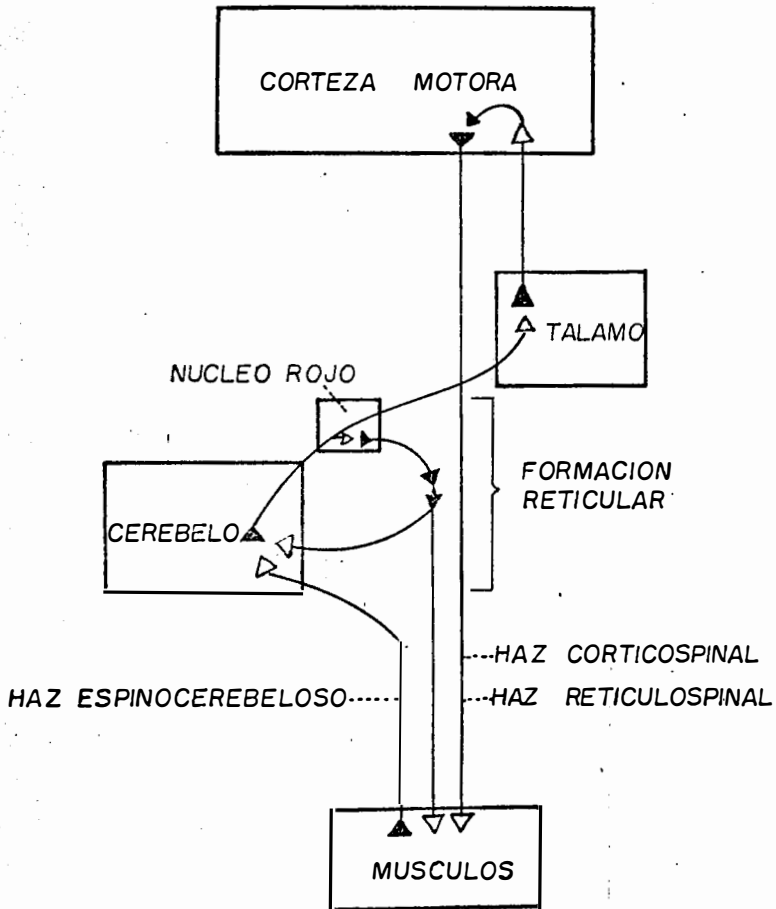
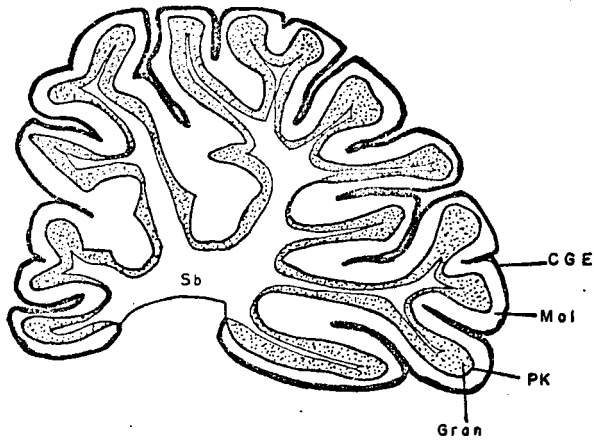


FIG. 7

Fig. 8.- Dibujo esquemático de la superficie de un corte histológico del cerebelo del cuyo.

- (A) Recién nacido. Muestra la capa granular externa (CGE); la capa molecular (Mol); la capa de células de Purkinje (Pk); la capa granular interna (Gran) y la sustancia blanca (Sb). Barra = 3 mm.
- (B) Adulto. Muestra la capa molecular (Mol); la capa de células de Purkinje; la capa granular interna (Gran) y la sustancia blanca (Sb). Barra = 3 mm.

(A)



(B)

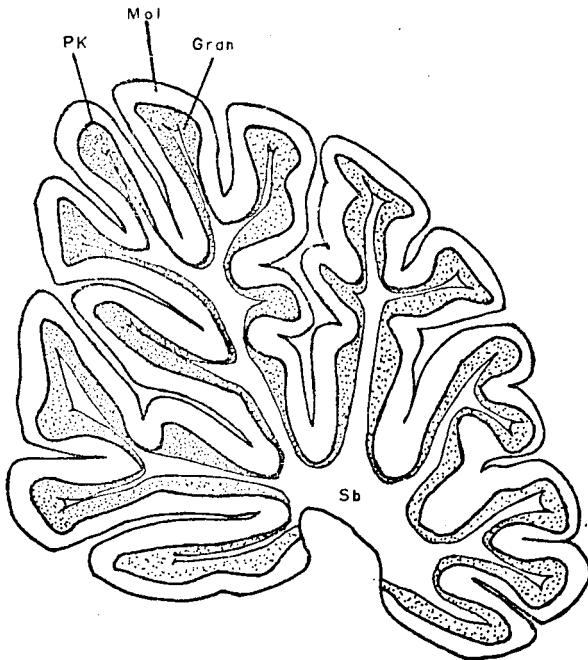


FIG 8



Fig. 9.- Fotomicrografía de la corteza cerebelosa de un cuyo recién nacido. Se observan las cuatro capas celulares típicas de la corteza cerebelosa de un mamífero recién nacido: la capa granular externa (CGE); la capa molecular (Mol); la capa de células de Purkinje (Pk) y la capa granular interna (Gran). Asimismo, se observan los diferentes tipos celulares: células de Purkinje (CP); células estrelladas y en canasta; células granulares (CGr) y las células de Golgi tipo II (CG). Se observa el fenómeno de que algunas células de Purkinje se localizan fuera de la línea de células de Purkinje, es decir, en la capa molecular (flechas). Klüver-Barrera. X 231.

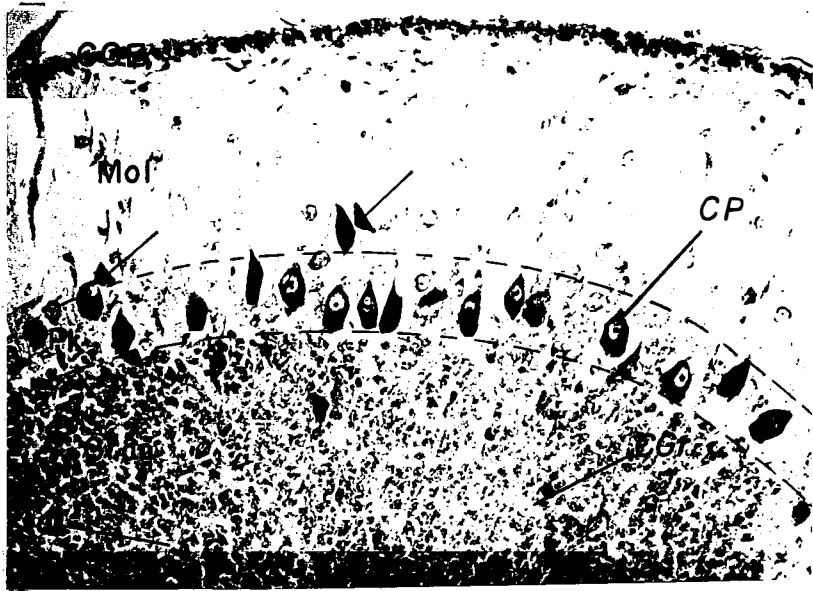


FIG. 9

Fig. 10.- Fotomicrografía de la corteza cerebelosa de un cuyo adulto. Se observan las tres capas celulares de un mamífero adulto: la capa molecular (Mol); la capa de células de Purkinje (Pk) y la capa granular interna (Gran). Asimismo se observan los diferentes tipos celulares: células de Purkinje (CP); células en canasta; células estrelladas; células granulares (CGr) y las células de Golgi tipo II (CG). Klüver-Barrera. X 231.



FIG. 10

Fig. 11.- Fotomicrografía que muestra el espesor de la capa granular externa (CGE); el espesor de la capa molecular (Moí) y el diámetro menor de las células de Purkinje (CP) del cuyo recién nacido y del adulto. 11-A Recién nacido. 11-B Adulto.
Klüver-Barrera. X 231.

(A)



(B)

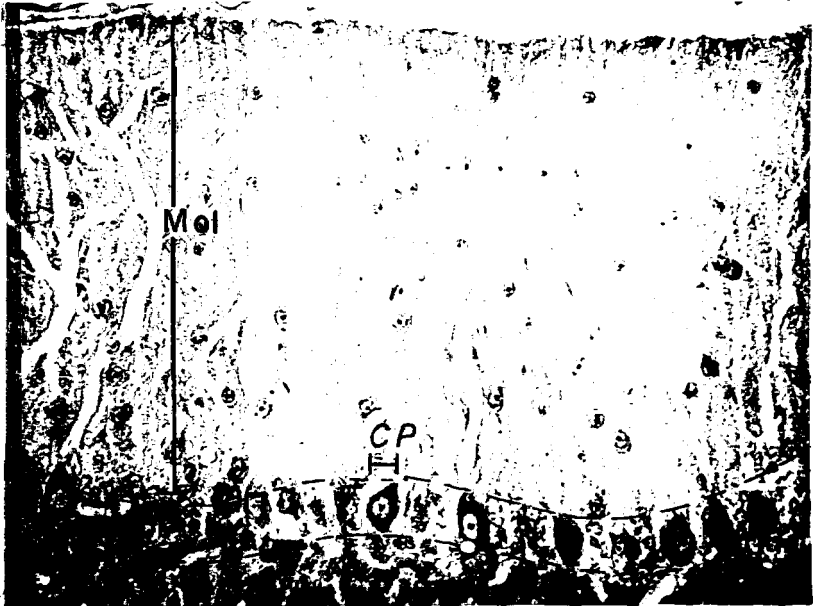


FIG. 11

Fig. 12.- Fotomicrografía que muestra las células atípicas de Purkinje (AP), y las células típicas de Purkinje (CP). Las flechas in dican la posición periférica del nucleolo. Klüver-Barrera. X 340.

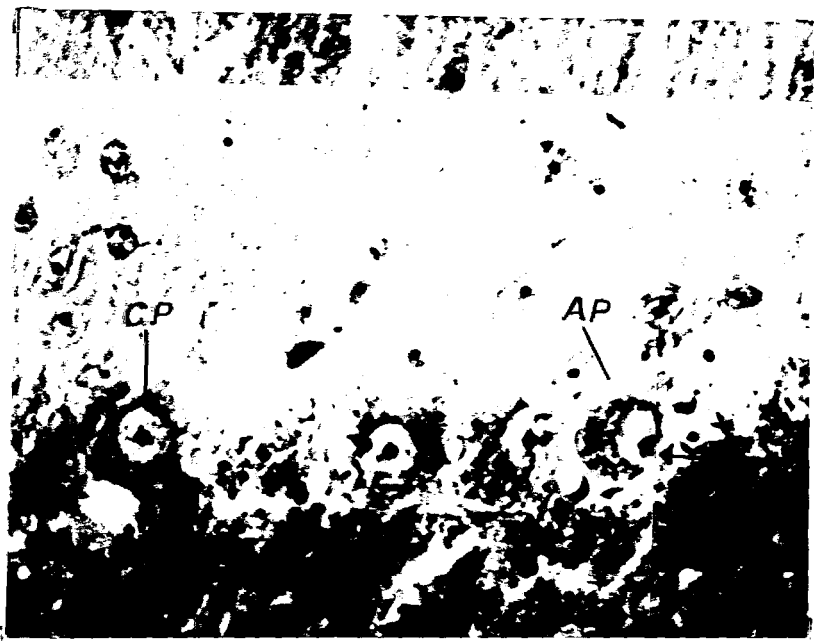


FIG. 12

BIBLIOGRAFIA

Altman, J. "Postnatal development of the cerebellar Cortex in the Rat: I. the external germinal layer and the transitional molecular layer. J. Comp. Neur., 145: 353, 1972a.

Altman, J. "Postnatal development of the Cerebellar Cortex in the Rat: II. Phases in the maturation of Purkinje cells and of the molecular layer". J. Comp. Neur., 145: 399, 1972b.

Altman, J., y Anderson W. J. "Experimental Reorganization of the Cerebellar Cortex. II. Effects of elimination of most microneurons with prolonged X-irradiation started at four days. J. Comp. Neur., 149: 123-152, 1973.

Altman, J., y Anderson W. J. "Experimental Reorganization of the Cerebellar Cortex. I. Morphological effects of elimination of all microneurons with prolonged X-irradiation started at birth. J. Comp. Neur., 146: 355-405. (Citado por Altman y Anderson, 1973).

Brobeck J. R. (edit) 1933, Best y Taylor. "Bases Fisiológicas de la Práctica Médica", Editorial Médica Panamericana, 10a. Edición, pp 1378-1382, México.

Eccles, J. C. "Neurogenesis and morphogenesis of the cerebellum cortex. Proc. Nat. Acad. Sci (USA) 66:294, 1970.

González F.A. y De Robertis E. "A formalin perfusion fixation method for his-topphysiological study of the central nervous system with the electron micros -

cope", *Neur.*, 13: 758-771, 1963.

Guyton C. A., 1979. "Fisiología y Fisiopatología Básica", Edit. Interamericano, 2a. Edic., pp 408-412, México.

Harkness E. J. y Wagner E. J., 1980. "Biología y Clínica de Conejos y Roedores", Edit. Acriba, pp 15-22, España.

Henn A. F., Venema R., Anderson D. y Sellstrom A. "An analysis of Amino-butyrate Receptors and Uptake by Isolated Purkinje Cells". *Journal of Neurochemistry.*, 34: 1671-1677, 1980.

Junqueiro L. C., Carneiro J. y López-Sáez, 1981. "Biología Celular", Editorial La Prensa Médica Mexicana, pp 120-138, México.

Lo Velle W. F. y Lo Velle A. "A difference in the nucleoli of Purkinje Cells of the Nodular Lobe of the Hamster Cerebellum". *Brain Research.*, 265: 119-124, 1983.

Lawrence E. H., Pansky B. y Siegel A., 1982. "Neurociencias, Enfoque Sistemático, 1a. Edic. en español, Edit. Mc Graw-Hill, pp 310-323, México.

Lee G. L. (ed), 1968. "Manual of histologic staining methods, of the Armed Forces Institute of Pathology, Third Edition, Edit. Mc Grow-Hill, USA.

Llinás R. R. "The Cortex of the Cerebellum", *Scientific American*, pp 56-71, January 1975.

Miale, I. L. and Sidman R. L. "An autoradiographic analysis of histogenesis in the mouse cerebellum. *Exp. Neurol.*, 4: 277, 1961.

Quiroz G. F., 1983. "Anatomía Humana", Edit. Porrúa, 24 Edic., Tomo II, pp 269-271, México.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Facultad de Ciencias

Expediente

Número 356/86

Sr. Gerardo Jesús Flores Díaz
P r e s e n t e . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado -
el tema de Tesis "Estructura de la corteza cerebelar en cuyos (Cavia
porcellus), recién nacidos y adultos. Estudio Comparativo" para obte
ner la Licenciatura en Biología con Orientación Biomédica.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptado como
Director de dicha Tesis el M. en C. Juan Mora Galindo.



FACULTAD DE CIENCIAS

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal., Abril 19 de 1986

El Director


Ing. Edmundo Ponce Adame.

El Secretario

Arq. Mario Patricio Castillo Paredes.

c.c.p. El M. en C. Juan Mora Galindo, Director de Tesis. -Pte.
c.c.p. El expediente del alumno.

'mjsd

Guadalajara, Jal., enero 15 de 1987

DR. CARLOS ASTENGO OSUNA,
Director de la Facultad de Ciencias,
Universidad de Guadalajara.
P r e s e n t e .

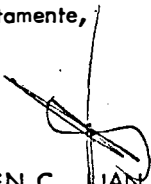
Estimado Dr. Astengo Osuna :

Por éste medio comunico a usted que el señor GERARDO JESUS FLORES DIAZ, Pasante de la Licenciatura en Biología, con número de registro 78271027, ha concluido satisfactoriamente el trabajo de Tesis titulada : ESTRUCTURA DE LA CORTEZA CEREBELAR EN CUYOS (Cavia porcellus), RECIEN NACIDOS Y ADULTOS. ESTUDIO COMPARATIVO realizado en la Unidad de Investigación Biomédica de Occidente, I. M. S. S.

Asimismo le informo que he revisado el manuscrito de la Tesis y considero que cumple con los requisitos establecidos por la Facultad.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente,



M. EN C. JUAN MORA GALINDO
Director de Tesis