

# Universidad de Guadalajara

---

Facultad de Ciencias



“Estudio Estructural y Bioquímico de la Corteza Cerebral,  
Cerebelo, y Tallo Cerebral del Ratón Atómico Adulto.”

Tesis Profesional

Que Para obtener el Título de:

Licenciado en Biología

Presenta:

Martha Catalina Rivera Cervantes

Guadalajara, Jalisco. 1990.

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
FACULTAD DE CIENCIAS

"ESTUDIO ESTRUCTURAL Y BIOQUIMICO DE LA CORTEZA CEREBRAL,  
CEREBELO, Y TALLO CEREBRAL DEL RATON ATIMICO ADULTO"

TESIS PROFESIONAL QUE PARA  
OBTENER EL TITULO DE:  
LICENCIADO EN BIOLOGIA  
PRESENTA:  
MARTHA C. RIVERA CERVANTES.

GUADALAJARA, JALISCO 1990.

14321/021100  
B727  
EJ

# I N D I C E

I.- INTRODUCCION.....	1
1.- Timo	
2.- Relación Timo- Funciones Neuroendocrinas	
3.- Relación Timo- Tiroides	
4.- Desarrollo Normal del Sistema Nervioso Central	
A) Cerebelo	
B) Tallo Cerebral	
C) Telencéfalo	
II.- ANTECEDENTES .....	13
III.- HIPOTESIS .....	19
IV.- OBJETIVOS .....	20
V.- MATERIAL Y METODO .....	21
VI.- RESULTADOS .....	28
FIGURAS	
VII.- DISCUSIONES .....	32
VIII.-BIBLIOGRAFIA .....	36

# INTRODUCCION

## I I M O

En el ser humano, el timo está ubicado en el torax inmediatamente por debajo del esternón se prolonga hasta la base del corazón (Curtis H., 1983). En los vertebrados inferiores es más difícil determinar si ciertas masas, comúnmente denominadas tejido tímico son en realidad homólogas al timo tal como se presenta en las formas superiores. En los mamíferos el timo se deriva de las porciones ventrales de la tercera y cuarta bolsa faríngea (Weichert y Presch, 1981).

### Localización y Estructura

El timo es un órgano que en el hombre tienen una ubicación ventral, es una masa aplanada de color rosado (Fig.1) (Ham W. 1987). En la mayor parte de las especies el timo consiste en dos porciones, no fusionadas. En el hombre presenta dos lóbulos unidos por tejido conectivo. Un lóbulo está compuesto de miles de lobulillos, y cada uno de ellos contiene componentes corticales y medulares. Los lóbulos no son unidades totalmente independientes dado que la médula constituye un centro para cada lóbulo y envía prolongaciones a cada lobulillo. Algunas células reticulares forman una red de interconexiones, que muchos investigadores la consideran como una barrera entre sangre y timo similar a la barrera hematoencefálica del sistema nervioso central (Leeson, 1985).

El tamaño y desarrollo del timo varían con la edad del

individuo alcanza su desarrollo máximo aproximadamente en la pubertad, después de la cual se convierte en un órgano atrófico. Esta involución comienza por la zona cortical, que paulatinamente se vuelve más reducida. Se advierte que el timo involuciona pero no desaparece totalmente. Además de experimentar una involución relacionada con la edad, el timo puede sufrir una involución accidental, ya que es muy sensible a las radiaciones, infecciones y enfermedades prolongadas (Junqueira y Col, 1973)

## F u n c i o n

La glándula de timo tiene por lo menos dos funciones. Primero el timo confiere competencia inmunitaria a los linfocitos T, estos adquieren la capacidad de diferenciarse y convertirse en células que reaccionan a la presencia de antígenos específicos (Solomon E. P., 1987).

En 1961, Archer y Col. informaron que la extirpación del timo de un animal neonato producía trastorno del desarrollo de las capacidades inmunológicas (Junqueira y col, 1973). Otra de las funciones conocidas del timo es que presenta actividad de glándula endócrina. Dicho órgano secreta varias hormonas, entre las cuales destaca la timosina, es probable que la acción de esta hormona produce efectos sobre los linfocitos T después de que salen del timo, estimulándolos para que completen su diferenciación y adquieran actividad inmunitaria (Solomon, E. P. y col. 1987). Algunas hormonas estimulan el crecimiento del timo como en el caso de las hormonas tiroideas. Esto aprueba la relación entre la glándula tiroidea y el timo ya que la tiroidectomía facilita la involución de este órgano (Leeson, 1985). Por otra

parte si las hormonas esteroides alcanzan concentración suficiente en la sangre producen involución de la glándula. Esto prueba que la involución del timo en la pubertad esta directamente relacionado con la concentración elevada de hormonas sexuales. (Ham W., 1983).

La hormona adrenocorticotrópica (ACTH), producida por la porción anterior de la hipófisis, causa involución rápida del timo, al estimular la secreción de esteroides de la suprarrenal. (Junqueira, 1973).

#### **Relación del Timo con las Funciones Neuroendócrinas.**

Recientemente se ha demostrado que existe una interdependencia bidireccional entre los sistemas inmunológicos y neuroendocrinos, con la intervención de mensajeros comunes como son la ACTH el cortisol y las endorfinas. El timo -el órgano inmunológico por antonomasia- es capaz de producir polipeptidos que ejercen actividades de tipo hormonal sobre los linfocitos. Estos mismos péptidos tímicos se han podido detectar dentro del sistema nervioso central (S.N.C.) (Vincent, J.D., y G Simmon; 1986). El sistema nervioso central es capaz de coordinar múltiples funciones orgánicas y de transportar la información que se capta a través de las neuronas que conducen impulsos eléctricos y secretan neurohormonas que finalmente modulan los procesos fisiológicos (Zarate A., 1989). Se ha considerado la posibilidad de que las actividades endócrinas tímicas esten relacionadas con mecanismos regulatorios neuroendócrinos del cerebro. (Pierpaoly, W. 1976).

Parece ser que las hormonas producidas en timo influyen en

la síntesis, secreción, concentración sanguínea y metabolismo de otras hormonas. De esta manera, los niveles de tiroxina y gonadotropina están particularmente afectados, en el ratón desnudo atímico. En la etapa fetal la tiroxina afecta el desarrollo completo del cerebro (Eayrs, 1966; Levine y Treiman, 1969; Jost, 1969; Jost et al., 1969), por lo que las hormonas tiroideas están asociadas con algunos procesos de maduración. (Pilt Rivers y Tata, 1949; Balázs, R.; Kovács, S. 1968). Los efectos de las hormonas tiroideas más notables están ejemplificados por déficit de crecimiento y retraso mental (cretinismo). Es claro entonces que estas hormonas son determinantes importantes del programa de desarrollo genéticamente codificado. No en sus detalles, pero es indudable el papel vital de las hormonas tiroideas en el desarrollo del sistema nervioso (Hamburgh, 1969; Goodman L. 1978)

### **Relación timo- tiroides**

Se ha propuesto la teoría de que existe un "eje hipotálamo hipófisis- timo" que es capaz de regular la producción tanto de neurohormonas como neurotransmisores (Zárate A. 1989). La tiroides tiene cierta interrelación con la parte anterior de la hipófisis ya que es la encargada de producir la TSH (Hormona estimulante de la tiroides) esta hormona estimula la producción de hormonas tiroideas.

Las dos hormonas más importantes secretadas por la tiroides en general son triyodotironina (T3) que posee tres átomos de yodo, y la tiroxina (T4), que tiene cuatro átomos de yodo. Ambas se sintetizan a partir de yodo y el aminoácido tirosina. La regulación de la secreción de la hormona tiroidea depende de un meca-

nismo de retroalimentación entre la hipófisis anterior y la glándula tiroides. Cuando la concentración de hormonas tiroideas en la sangre alcanza un nivel superior al normal, las células de la hipófisis anterior son inhibidas y la liberación de TSH disminuye (Solomon, E. P. 1987).

La función de las dos hormonas T3 y T4 es parcialmente semejante, pero difieren en rapidez e intensidad de acción. La triyodotironina es cuatro veces más potente que la tiroxina pero su concentración sanguínea es menor y persiste menos tiempo que la tiroxina. Las hormonas tiroideas además influyen en el desarrollo del timo ya que estimulan su crecimiento.

### **F u n c i o n d e l a H o r m o n a T i r o i d e a**

El efecto principal de la tiroxina es aumentar la actividad metabólica de la mayor parte de los tejidos corporales. Las hormonas tiroideas son esenciales para el crecimiento y desarrollo normal. Dichas hormonas también son necesarias para la diferenciación celular. Estas hormonas estimulan el desarrollo corporal al promover la síntesis de ciertas proteínas como la albúmina e incrementan el efecto de la hormona de crecimiento. Además, tiene efectos sobre la frecuencia cardíaca, sistema cardiovascular, respiración y sistema nervioso, las hormonas tiroideas aumentan la rapidez de la encefalización. En general, el tiempo de reacción de algunas funciones que necesitan integración por el cerebro se acelera al administrar hormonas tiroideas, mientras que la falta de dichas hormonas disminuye esta función. El hombre hipertiroideo suele estar nervioso y puede presentar muchas tendencias psiconeuróticas, como complejos

de ansiedad, preocupación extrema y paranoia. (Solomon E. P. 1987; Guyton A. C. 1977; Ganong F. G. 1974).

### DESARROLLO NORMAL DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

En los vertebrados, el sistema nervioso central esta formado por un encéfalo complejo que es continuo con un cordón nervioso tubular dorsal (médula espinal). El sistema nervioso central integra toda la información que llega y determina las respuestas adecuadas. El sistema nervioso periférico (SNP) consta de vías sensoriales (aférentes) y motoras (eferentes) que llevan la información hacia y desde el sistema nervioso central. El sistema motor presenta dos subdivisiones adicionales: el sistema autónomo (involuntario) que transmite señales al músculo liso, al cardíaco y a las glándulas, y el sistema somático (voluntario) que estimula el músculo esquelético (Curtis H. 1983; Solomon E. P. y Col. 1987). El cerebro flota por así decirlo, en el líquido cerebroespinal (LCE) que soporta el suave y delicado órgano y actúa como una estructura que absorbe los choques o golpes exteriores que recaen sobre la cabeza (Noback Ch. R., 1975).

El sistema nervioso de los vertebrados proviene del ectodermo del embrión. El S.N.C. se desarrolla a partir de un modelo tubular, el tubo neural, el cual en la parte anterior, se dilata y forma tres vesículas cerebrales primarias, llamadas Prosencéfalo, Mesencéfalo y Rombencéfalo (López Antón, 1983). Del Prosencéfalo se derivan dos vesículas cerebrales que son el Telencéfalo y el Diencéfalo. El Telencéfalo da origen al cerebro propiamente dicho (Hemisferios cerebrales), mientras que el Diencéfalo se diferencia en tálamo e hipotálamo; el Mesencéfalo

persiste indiviso y forma los pedúnculos cerebrales y el tectum. El Rombencéfalo se subdivide para integrar el Metencéfalo y el Mielencéfalo, del Metencéfalo se deriva el cerebelo y el puente de Varolio, y del Mielencéfalo se origina el bulbo raquídeo. Las estructuras que provienen de las tres últimas vesículas cerebrales, a excepción del cerebelo, forman en conjunto el tallo cerebral (Fig.2) (López Antúnez, 1986; Noback Ch. 1980; Solomon E. P., 1987).

### **C e r e b e l o**

El cerebelo es una de las partes del sistema nervioso mejor estudiado, se han empleado diversos modelos de estudio para conocer su estructura y función. El cerebelo es una evaginación del primitivo encéfalo posterior, está relacionado con la ejecución y ajuste fino de complejos patrones de movimiento muscular (Feria Velasco, y col. 1986; Curtis H. 1983).

#### **Ubicación.**

En el hombre el cerebelo ocupa una gran parte de la fosa posterior del craneo. Está situado por encima y atrás del bulbo raquídeo y el puente. En la parte superior corresponde al tentorium (tienda del cerebelo), que lo separa de los lóbulos occipitales del cerebro. Caudalmente llega hasta la parte superior del conducto vertebral (López Antúnez., 1986).

#### **Aspectos Evolutivos.**

El cerebelo ha incrementado en tamaño en el curso de la evolución de los vertebrados. Es mucho más grande en los homeo-

terminos que en los peces y reptiles estos animales son de movimientos más lentos y alcanza su mayor tamaño relativo en las aves, donde se asocia con la coordinación necesaria para el vuelo. Mientras más evolucionado es un animal se esperaría que su sistema cerebeloso así lo fuera, pero no se debe de olvidar que cada línea filogenética evoluciona independientemente (Nieuwenhuys y Nicholson, 1969; Barr M. L. 1979).

### **Estructura**

El cerebelo incluye dos hemisferios y el vermis central dividido en lóbulos por cisuras transversales. (Lesson, 1985; Noback y Damerest, 1980). La substancia gris del cerebelo se sitúa en la superficie como una corteza delgada que cubre la substancia blanca central, pero también hay acúmulos pequeños de neuronas (núcleos) en las partes centrales. La corteza cerebelosa en un corte muestra 3 capas: La más externa capa molecular con pocas neuronas las cuales son conocidas con el nombre de células en canasta, la siguiente capa se compone con una hilera de células grandes llamadas de Purkinje estas células dan origen a fibras cuya función es la de enviar los impulsos cerebelosos hacia otras partes de la corteza cerebelosa o a los núcleos profundos del cerebelo y la más interna granulosa con numerosos cuerpos neuronales pequeños en esta zona se encuentran células de Golgi y células granulares (Lesson, 1985; Martínez S. F. 1973).

### **Función**

Desde el punto de vista funcional el cerebelo tiene un papel esencial en la coordinación de la actividad de grupos musculares; no es el iniciador del movimiento pero registra el desa-

rollo dinámico de la extensión y la tensión dentro del sistema muscular, y actúa como un eficaz modulador y como mecanismo de gobierno de las actividades motoras. No toma parte en la apreciación de sensaciones conscientes ni en las funciones intelectuales.

### **T a l l o   C e r e b r a l**

El tallo o tronco cerebral es una extensión tuberosa de la médula espinal. El tronco contiene tractos nerviosos que transmiten señales hacia y desde la médula espinal y también a los cuerpos neuronales cuyos axones inervan los músculos y glándulas de la región cefálica. Los elementos del Tallo Cerebral que directamente están relacionados con los movimientos voluntarios, son los grupos de neuronas motoras de los pares craneales que inervan músculos estriados esqueléticos (Feria V. y col., 1986).

#### **Ubicación.**

El tallo cerebral se encuentra en la fosa posterior del cráneo y se continúa con la médula espinal. Dorsalmente está en relación con el cerebelo, con el cual limita el cuarto ventrículo (López Antón, 1980).

#### **Estructura**

El tallo cerebral está formado por el mesencéfalo, el puente y el bulbo raquídeo.

**Bulbo raquídeo.** Las características básicas del bulbo son: las pirámides, la oliva, los núcleos gracilis y cuneatus, los núcleos que se hallan bajo el piso del cuarto ventrículo, y el cuerpo restiforme.

**Puente.** Los cortes del puente, cualquiera que sea la altura a que se practiquen, se caracterizan básicamente por el surco basilar, destinado al alojamiento de la arteria basilar. Esta arteria constituye la principal fuente de irrigación para la mayor parte del tronco cerebral y una parte dorsal, la calota.

**Mesencéfalo.** El mesencéfalo es la porción del sistema nervioso que conecta el puente con el diencéfalo y los hemisferios cerebrales. Está formado por dos porciones bien diferenciadas: los pedúnculos cerebrales, situados en su porción ventral, y los tubérculos cuadrigéminos, en su porción dorsal. Además dentro del mesencéfalo se encuentra, la sustancia negra, el núcleo rojo el tectum, el acueducto cerebral (Martínez G. F. 1973).

#### **Función.**

En la médula oblongada, se encuentran los centros vitales para algunas de las principales funciones de regulación automática como el ritmo cardiaco, la respiración y la presión arterial; estas funciones también pueden ser influidas por otras regiones del cerebro; contiene además los centros reflejos que controlan deglución, tos y estornudo retransmite mensajes hacia otras partes del encéfalo. El puente sirve como enlace de conexión e integración entre varias partes del encéfalo; ayuda a regular la respiración. En el mesencéfalo los colículos superiores median los reflejos visuales; los inferiores median los reflejos auditivos. El núcleo rojo integra la información relacionada con el tono muscular y la postura. (Solomon E. P. 1987).

## **T e l e n c e f a l o**

(Corteza cerebral)

Es la parte más prominente del encéfalo. Una cisura longitudinal lo divide en dos hemisferios, cada uno de los cuales presenta un ventrículo (Solomon E. P., 1987). Se forma a partir de las dos primeras vesículas cerebrales secundarias: El telencéfalo y el diencefalo (López Antúnez, 1983).

### **Ubicación.**

Dorsalmente corresponde a la bóveda craneana; su cara basal descansa hacia adelante sobre los pisos anterior y medio de la base del cráneo y hacia atrás sobre el tentorium, que lo separa del cerebelo (López Antúnez., 1986).

### **Estructura.**

El cerebro está cubierto en su superficie externa por una capa de sustancia gris la corteza cerebral, esta superficie se encuentra plegada en numerosas circunvoluciones, separadas entre sí por surcos y cisuras (Martínez S. F., 1973). Los hemisferios presentan una forma ovoide y corresponden a la corteza cerebral, núcleos grises centrales y comisura interhemisférica. (Solomon E. P., 1987).

La corteza cerebral se extiende por toda la periferia, revistiendo completamente la sustancia blanca, además presenta algunos núcleos internos formados de sustancia gris que se encuentran aislados en la sustancia blanca. La circunvoluciones presentes en los hemisferios aumentan el área superficial, la constitución citológica de la corteza cerebral varía de acuerdo

con la zona (Lesson, 1985; Junqueira, 1973). En su mayoría las células de la corteza cerebral son piramidales, estrelladas o fusiformes. La corteza se divide funcionalmente en tres áreas: Área motora, Área sensorial y Área de asociación (Solomon E.P., 1987).

### **Función**

El cerebro es centro de intelecto, memoria, habla y conciencia; recibe e interpreta la información sensorial proveniente de todos los órganos; controla las funciones motoras. El Área motora de la corteza cerebral controla el movimiento voluntario y ciertos tipos de movimiento involuntario, el Área sensorial recibe la información proveniente de ojos, oídos, tacto y receptores de presión y otros órganos de los sentidos. El Área de asociación es el centro del pensamiento, aprendizaje, habla y personalidad; almacén de memoria, conexión de las áreas sensoriales y motoras (Solomon, E. P., 1987).

# ANTECEDENTES

El sistema nervioso central junto con el sistema endócrino aseguran las funciones de control del organismo (Guyton A. C., 1977). El sistema neuroendocrino regula casi todas las funciones homeostáticas y metabólicas del organismo, además modula la velocidad del desarrollo y crecimiento; asimismo es determinante en el proceso reproductivo. El sistema nervioso influye directa o indirectamente sobre la secreción glandular endócrina y todas las hormonas tienen algún efecto sobre la actividad cerebral y el aparato nervioso periférico (Zarate A. 1989).

El conocimiento acerca de la maduración estructural y funcional del sistema nervioso central se ha desarrollado recientemente en forma importante gracias a la utilización de modelos experimentales en animales, particularmente roedores, gatos y monos. De esta forma se sabe que las funciones en algunas áreas del cerebro son modificadas por la concentración de glucosa, oxígeno y bióxido de carbono entre otros parámetros (Zamenhof et al., 1974; Zamenhof, 1976), modificaciones en los niveles de hormonas tiroideas, péptidos y neurotransmisores (Legrand et al., 1964; Legrand 1967; Rebiere et al., 1972; Gourdon et al., 1973; Legrand et al., 1976; Reviere et al., 1976). Además en animales irradiados durante los primeros días de vida; se han observado disturbios en la maduración del sistema nervioso central, (Altman et al., 1972; Altman et al., 1973 a y b ; Das, 1977); existen además modelos experimentales *in vivo*, para el estudio de los eventos relacionados con la maduración tanto a nivel funcional como estructural; como lo es la utilización de cepas mutantes de roedores. En la actualidad existen más de 140

cepas mutantes con afecciones en el sistema nervioso.

La introducción de mutantes ha tenido un inicio meramente casual, el análisis agudo, y la sistematización de su estudio ha dado como resultado, la estandarización de cepas con daños específicos. (Muller 1977; Reviere, et al., 1972; Sidman, et al., 1970; Ortiz, G. G. Dueñas J. M. en prensa), por ejemplo: **Los ratones Staggerer** (Verne, et al., 1978), son una mutación autosómica recesiva, donde el homocigoto presenta ataxia con temblores, su cerebelo es pequeño con folias rudimentarias. **La cepa de ratones Weaver** (wv), es una mutante autosómica recesiva, donde el homocigoto (wv/wv) presenta ataxia, hipotonía y temblores en reposo, el cerebelo es menor en tamaño (Sidman et al., 1965). **los ratones Reeler** (rl). son una cepa mutante autosómica recesiva y el homocigoto (rl/rl), presenta trastornos en la postura, ataxia al caminar con temblor y bamboleo (Caviness, 1977).

Las cepas mutantes proveen un modelo con un alto grado de reproducibilidad y selectividad. En comparación con otros modelos en donde el fenómeno estudiado es resultado de efectos secundarios, por ejemplo: La modificación en la concentración de elementos esenciales (Ac. grasos y aminoácidos), hormonas y neurotransmisores, no provoca un daño específico sino sistémico. (Legrand, et al., 1964; Legrand 1967; Reviere, et al., 1972; Gourdon, et al., 1973; Legrand, et al., 1976; Reviere, et al., 1976).

El **ratón desnudo atímico** (BALB/c An Bom nu/nu D.F.), es una mutante espontánea, autosómica recesiva, con carencia congénita de timo (Hernández y col., 1977). Flanagan estableció que el daño genético del locus "nu", corresponde al cromosoma 11 (Giovannella,

1978). Los ratones portadores de esta mutación son un modelo experimental ideal para estudios de diversos programas de investigación, aunque la elevada susceptibilidad a las infecciones bacterianas, virales o micóticas, así como su fertilidad disminuida, hacen más difícil su mantenimiento y estudio. (Hernández y col., 1977). Este modelo se ha utilizado ampliamente para estudios inmunológicos ya que la carencia congénita de timo, resulta en ausencia de la inmunidad celular y disminución de la inmunidad humoral. Se han estudiado las alteraciones de tipo inmunológico en este ratón (Pierpaoli y Sorkin, 1972; Fogh y Giovannella, 1978; Wortis et al., 1971; Rygaard Jorgen, 1969; Hernández et al., 1977). Estas alteraciones de la respuesta inmune condicionan que el injerto de tejidos normales o células malignas persista por tiempo indefinido en el ratón desnudo; lo cual es aplicable como objeto de investigación oncológica. (Hernández A. y Márquez H. 1977).

El ratón desnudo se caracteriza por la ausencia congénita de timo y pelo, una disminución en la sobrevivencia bajo condiciones ordinarias, queratinización anormal de los folículos pilosos y fertilidad deficiente en las hembras.

También se han observado desajustes específicos de tiroides y funciones gonadales en el ratón atímico desnudo y timectomizado neonatalmente (Pierpaoli, 1975).

Esta mutante confiere modificaciones en la síntesis de hormonas de la glándula tiroides y suprarrenal. La tiroides en el ratón atímico se ve atrofiada y se caracteriza por la presencia de folículos extremadamente inflamados, que contienen un espumoso

fluido de coloides y las células que envuelven a los folículos están aplanadas (Pierpaoli., 1972; Pierpaoli et al., 1976). Hasta ahora la relación de el timo o los factores humorales tímicos con la función de la corteza adrenal no se ha establecido. Pierpaoli sugirió en 1976 que el timo en la vida fetal o primaria postnatal secreta uno o varios factores posiblemente de tipo hormonal que promueven la diferenciación de la hipófisis. La presencia del timo durante los estados iniciales de la ontogénesis influye principalmente en la respuesta inmune (Davies y Carter, 1973) y por otra parte modula ciertas funciones endócrinas vitales para el desarrollo del sistema nervioso central. (Pierpaoli et al., 1976).

Los cambios morfológicos presentes en la tiroides del ratón atímico provocan una modificación en los niveles de hormonas tiroideas; algunos trabajos sugieren que la modificación de los niveles de estas hormonas desincronizan los eventos morfogénéticos del sistema nervioso central. (Salas y Cintra, 1974; Barnett y Lodge 1961; Nicholson y Altman., 1972; Salas et al., 1974; Schapiro et al., 1973). Las modificaciones hormonales en esta cepa mutante se expresan con marcadas disminuciones de los niveles en sangre de triyodotironina (T3) y tiroxina (T4) que son las principales hormonas sintetizadas en tiroides en comparación con los ratones normales. Estos valores se reducen hasta cerca de la mitad de los obtenidos en los animales normales. (Pierpaoli., 1972). Los niveles de testosterona disminuyen significativamente en machos y hembras de 6 días de edad en el ratón desnudo y en machos de 14 días. La concentración de corticosterona en sangre a los 6 días de edad no difiere significativamente del normal; pero

a los 14 días de edad el ratón atímico macho muestra un aumento en la concentración de esta hormona comparado con el normal a la misma edad y sexo. La progesterona es normal en hembras atímicas y prepubertales y se reduce profundamente en aquellas sexualmente maduras. Los niveles de 17-Beta estradiol en edad postpubertal en el ratón desnudo son mucho más bajos que en las hembras normales. Los ratones atímicos adultos y recién nacidos tienen marcadas disminuciones en los niveles de prolactina en la sangre y altos niveles de hormona luteotrópica. La implantación del timo normaliza los niveles de las dos hormonas. Estos hallazgos afirman el efecto del timo en la maduración del cerebro (Pierpaoli, 1976). En el ratón desnudo la implantación del timo al nacimiento reconstituye completamente las funciones estrogénicas, pero en las funciones tiroideas permanece el defecto (Pierpaoli., 1975).

Los efectos bioquímicos en el desarrollo del cerebro provocados por deficiencia tiroidea se han estudiado ampliamente por Baláz R. et al., 1968. El estudio de los efectos de las hormonas tiroideas durante la primera parte del desarrollo postnatal del SNC provee información acerca de los mecanismos involucrados en la maduración, especialmente porque el metabolismo es fuertemente afectado por estas hormonas.

Los mayores efectos de la tiroidectomía neonatal podrían manifestarse después de las dos primeras semanas de vida postnatal. Los resultados muestran que durante el período estudiado los efectos de la deficiencia tiroidea afectan la talla de las células pero no su número. Legrand en 1967 demostró que la maduración del cerebelo se ve fuertemente afectada por tiroidectomía neona-

tal. Así la migración de las células desde el estrato granular se retarda y la ramificación de células de purkinje se reduce. La proporción de síntesis de proteínas cerebrales también se reduce en la rata hipotiroidea; ésta disminución en el contenido proteico de las células y la alteración en la maduración estructural del tejido nervioso se ha relacionado con estos efectos (Balazs R. et al ., 1968).

De acuerdo a lo anteriormente expuesto resulta importante que el estudio de los efectos de los hormonas en el desarrollo normal del sistema nervioso es indispensable para conocer su estructura y función. Para esto ha sido necesario estandarizar modelos experimentales con desajustes endocrinos y establecer cuales son los efectos en el cerebro particularmente.

Los modelos animales que presentan mutaciones con afecciones en el sistema nervioso central, con características particulares en las que el daño es selectivo son bastante adecuadas para estudiar el crecimiento y maduración de este.

Los ratones de la cepa Balb/c que presentan una mutación en el cromosoma 11 de caracter homocigoto para el gen nu, presenta desordenes muy marcados en el sistema endocrino por lo cual es un modelo apropiado para el estudio del desarrollo funcional y estructural del cerebro.

# HIPOTESIS

Las hormonas influyen en el desarrollo estructural y funcional del Sistema Nervioso Central. Si la concentración de hormonas en particular las tiroideas disminuye durante la última etapa fetal y la primera posnatal entonces la cepa mutante Balb/c An Bom nu/nu presentara alteraciones en la concentración de biomoléculas (ADN, ARN y proteínas) y en la citoarquitectura de la corteza cerebral, cerebelo y tallo cerebral

# OBJETIVOS

## OBJETIVO GENERAL.

Establecer diferencias en contenido de ADN, ARN y Proteínas de la corteza cerebral, tallo cerebral y cerebelo, así como conocer su morfología en ratones atímicos de la cepa Balb/c An Bom nu/nu. D.F., en la edad adulta.

## OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Conocer algunos parámetros somatométricos del ratón atímico, en función del tiempo
  - 1.1. Peso corporal
  - 1.2. Talla corporal
  - 1.3. Talla del encéfalo
2. Establecer las características histológicas microscópicas de la corteza cerebral, tallo cerebral y cerebelo en el ratón atímico adulto.
3. Establecer posibles relaciones de la variación en la concentración de ac. nucleicos y proteínas por la falta de timo.

**MATERIAL**

**Y**

**MÉTODOS**

Se utilizaron seis ratones de la cepa BALB/c An Bom nu/nu D.F. ó ratón atómico y seis de la cepa normal BALB/c como testigos, para el estudio bioquímico y 20 para el estudio histológico. Todos los animales se mantuvieron bajo condiciones de bioterio en ciclos de luz -oscuridad de 12 x 12 hrs., con temperatura (22 C + 0.5 C) y humedad ambiental relativa (45%), la alimentación fue con Chow- Purina y agua a libre acceso (Fogh y Giovanella, 1978). La preparación histológica se realizó en tres regiones: (A) cerebelo (B) tallo cerebral y (C) telencéfalo (corteza cerebral). Tanto los animales experimentales como los testigos fueron anestesiados con eter por inhalación y se fijaron con perfusión vía intracardiaca (Feria Velasco et al., 1970), con una solución lavadora "A" la cual contiene Amortiguador de Fosfatos de Sodio 0.1 M., Heparina 1000 U.I. / 1000 ml de sol., Procaina igr./ 1000 ml. de sol., y Cloruro de Calcio 0.001 M. 1 gota/ 10 ml de sol., durante 2 minutos y la solución "B" que contiene Amortiguador de Fosfatos 0.1 M. y Formaldehído al 37%, durante 10 minutos, a temperatura ambiente y a una presión de 140 cm de agua. Posteriormente se obtuvo el encéfalo y se diseccionó el cerebelo, el tallo cerebral y el telencéfalo, cuya morfología macroscópica se estudió en referencia a la estructura de las cepas no mutantes BALB/c. Estas áreas se postfijaron 90 minutos en la solución "B" para ser luego deshidratados con etanol en concentración gradual creciente y se incluyó en parafina. En el caso del cerebelo se hizo un corte a mitad del vermis y se estudiaron fragmentos representativos del lóbulo IV-V (Larsell, 1952). De el telencéfalo se obtuvo el área sensorimotora a la cual se le hizo

un corte coronal y en el tallo cerebral el corte fue a nivel de puente y médula oblongada. Se obtuvieron cortes de 1 a 2 micrómetros que fueron teñidos con hematoxilina y eosina. Estos cortes fueron observados en un fotomicroscopio Carl Zeiss (Fomi III). Se obtuvieron fotomicrografías, las que se utilizaron para el estudio histológico y morfométrico. Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis estadístico. (Estadística descriptiva, inferencial paramétrica y T de Student) (Snedekar et al., 1967).

Para el estudio bioquímico se utilizaron ratones normales y atímicos de 60 y 90 días de edad, éstos animales fueron decapitados para obtener los encéfalos.

#### A) EXPERIMENTOS DE EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS Y PROTEÍNAS.

Estos experimentos se diseñaron con la finalidad de cuantificar ac. nucleicos y proteínas. Después de la obtención del cerebro se dividió en tres regiones: A) Cerebelo, B) Tallo cerebral y C) telencéfalo; las cuales fueron homogeneizadas con Cloroformo- Metanol (1:2) y se mantuvieron a temperatura de laboratorio durante 60 minutos con agitación a intervalos de tiempo con varilla de vidrio, después se centrifugó a 15000 rpm/10 mint., se descartó el sobrenadante y al precipitado se le adicionaron 9.5 ml de Cloroformo- Metanol (2:1) dejando en reposo durante 30 mint. agitando con varilla de vidrio., después de centrifugar a 15 000 rpm/10 mint., al precipitado se le dieron dos lavadas con Etanol Absoluto frío y luego dos más con TCA 5% frío previas centrifugaciones, después se le añadieron 10 ml. de

TCA al 5% a temperatura de laboratorio, y se colocó en baño María a 90 grados durante 25 min., el sobrenadante se colecta en un matraz de 50 ml. Al precipitado se le adicionan 10 ml. de TCA al 5% y se mantiene en baño María durante 25 min., el sobrenadante se coloca en el mismo matraz de 50 ml, y la pastilla se disuelve en 15 ml de TCA 5% se calienta durante 25 min. y se centrifuga, el sobrenadante se reúne en el mismo matraz. A el precipitado se le adicionan 10 ml. de NaOH 1M.

La muestra colocada en el matraz de 50 ml. se utilizó para la determinación de Ac. Nucleicos y Proteínas y el precipitado disuelto en NaOH para proteínas solamente.

Los métodos utilizados para la determinación de ADN, ARN y Proteínas se hicieron de acuerdo a los métodos de Burton y Col., 1956; Dishe y col., 1953 y Lowry y col., 1951; respectivamente.

El Método de Burton está basado en la reacción de difenilamina en condiciones ácidas, que forma un compuesto azul con una absorción definida. En solución ácida, la cadena lineal de una desoxipentosa se convierte a la forma beta-hidroxilevulinoaldehído altamente reactiva y que reacciona con la difenilamina para dar un complejo azul.

(\*) METODO DE DETERMINACION DE ADN "BURTON"

#### REACTIVOS

- 1.- Na Cl 10% + Tris 0.05 M
- 2.- PCA 1 N
- 3.- Estandar (0.02 mg/ ml)
- 4.- Reactivo de Difenilamina (DFA).: 1.5 gr. de DFA, 100 ml. de Acido Acético Glacial, 1.5 ml de Ac. Sulfurico conc. y 0.5 ml de

Acetaldehído 1% .

### PROCEDIMIENTO

	Muestra	NaCl +tris	PCA	DFA
Bco.	-----	2.0 ml.	1.5ml.	2ml.
Estandar	0.6 ml.	1.4 ml.	1.5ml.	2ml.
Problema	2.0 ml.	----	1.5ml.	2ml.

Dejar reposar de 18 a 20 horas en baño María a 30 grados centígrados y determinar absorbancia: 595 nm, luz visible.

La reacción de orcinol para determinación de ARN se debe a la formación de furfural cuando se calienta la pentosa con ácido clorhídrico concentrado. El orcinol reacciona con furfural en presencia de cloruro férrico como catalizador, dando una coloración verde (Plummer. D. T., 1981)

(\*) METODO DE DETERMINACION DE ARN "ORCINOL"

### REACTIVOS

- 1.- Estandar de ARN (0.2 mg/ ml) en agua
- 2.- Reactivo de Orcinol: 1gr de Cloruro Ferrico, 1 Lt. de Ac. Clorhídrico concentrado, y 35 ml de orcinol al 6% en alcohol (Etanol).

### PROCEDIMIENTO

	MUESTRA	REACT. ORCINOL
Bco	-----	3.0 ml.
Estandar	0.4 ml.	3.0 ml.
Problema	0.2 ml.	3.0 ml.

Se colocan en baño María durante 20 mint. enfriar y determinar absorbancia a 665 nm. Luz roja.

La reacción de Lowry se basa en la capacidad de los residuos de tirosina en una proteína tratada con  $\text{Cu}^{2+}$  en una solución alcalina para reducir una mezcla de fosfomolibdato y sales de fosfotungstato para dar un color azul. Este método es más sensible que Biuret de tal forma que detecta hasta 5 microgramos de proteínas. (Slater J. R. 1986).

(\*) METODO PARA DETERMINACION DE PROTEINAS "LOWRY"

REACTIVOS

- 1.- Estandar de Albúmina ( 250  $\mu\text{m}$  /ml)
- 2.- Solución D: a) Carbonato de sodio 2% + tartrato 0.2%  
(disueltos en NaOH 0.1N).  
b) Sulfato de Cobre 0.5%

Proporción de a y b ( 50: 1)

- 3.- Na OH 0.1 N
- 4.- Folin- agua proporción 1:1

PROCEDIMIENTO

	MUESTRA	SOLN D	NaOH	FOLIN
Bco.	----	2ml.	200 $\mu\text{m}$	200 $\mu\text{m}$
Estandar	120 $\mu\text{m}$	2ml	80 $\mu\text{m}$	200 $\mu\text{m}$
Problema	20 $\mu\text{m}$	2ml.	180 $\mu\text{m}$	200 $\mu\text{m}$

Se mantienen de 20 a 30 minutos en obscuridad y se leen a 550 nm, finalmente se realizó una curva de calibración y cuantificación de las muestras de acuerdo a estas curvas.

Para estos experimentos se siguió el siguiente diagrama de flujo:

# TECNICA DE EXTRACCION DE ACIDOS NUCLEICOS Y PROTEINAS:

## Diagrama de Flujo

Homogenizar con 19 vol. de Cloroformo -metanol 1:2



Mantener a temperatura de laboratorio durante 60'  
agitando a intervalos con varilla de vidrio



Centrifugar a 15 000 rpm/10 mint.



P1 Adicionar 9.5 ml. de  
Cloroformo- metanol 2:1

Sobrenadante estudios  
de lípidos



Dejar en reposo durante 30 minutos agitando con  
varilla de vidrio  
Centrifugar a 15000 rpm/ 10 min



P2 Adicionar 10 ml. Etanol  
frio

Sobrenadante estudio  
de lípidos.



Centrifugar a 15000 rpm/10 min.



P3 Adicionar 15 ml. Etanol  
frio

Sobrenadante estudio  
de lípidos.



Centrifugar a 15 000 rpm/ 10 min.



P4 Adicionar TCA 10 y 15 ml.  
cada lavada

Sobrenadante estudio  
de lípidos



Centrifugaciones a 15 000 rpm/ 10 min.

P6 Adicionar 10 ml. de TCA al 5% a temperatura de laboratorio, poner a baño maría a 90 grados durante 25'

Sobrenadantes estudio de lípidos.



Centrifugar a 15 000 rpm/ 10 min.



P7 Adicionar 10 ml. de TCA al 5% a temperatura ambiente, calentar a 90 grados/ 25 min.



Sobrenadante coleccionar en matraz de 50 ml.



Centrifugar a 15 000 rpm/10 min.



P8 Adicionar 15 ml de TCA al 5% y calentar durante 25 min. a 90 grados centígrados.



Sobrenadante unir con el Sobrenadante anterior



Centrifugar a 15 000 rpm/ 10 min.



P9 Disolver la pastilla en NaOH 1 M. para determinación de proteínas.



Sobrenadante recolectar en el mismo matraz de 50 ml. (Para determinación de Ac. Nucleicos y proteínas.

# RESULTADOS

## 1.- PARAMETROS MORFOLOGICOS.

### A) SOMATOMETRIA:

La evaluación de las variables somatométricas en el ratón normal y atímico mostraron algunas diferencias a los 60 y 90 días de edad, los ratones atímicos presentaron un menor peso corporal del 21% y 14% respectivamente, solo a los 60 días de edad este cambio fue estadísticamente significativo (Fig.3). En relación a la talla corporal la diferencia fue menor en porcentaje ya que los ratones atímicos de 60 días de edad mostraron el 7.8% menos que los ratones normales mientras que a los 90 días no se encontró diferencia significativa (Fig.4).

Al evaluar la talla encefálica en los animales estudiados se observó un 12 y un 8% menor en los animales atímicos a los 60 y 90 días de edad respectivamente comparados con los animales normales, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Fig.5). Los pesos del cerebelo y tallo cerebral del ratón atímico no presentaron diferencias respecto a los normales en ninguna de las dos edades estudiadas, a diferencia del telencéfalo el cual presentó una variación estadísticamente significativa tanto a los 60 como a los 90 días de edad, 21 y 15% menor, respectivamente en el ratón atímico (Fig. 6).

### B) CONFIGURACION DE LA CORTEZA CEREBRAL:

#### Espesor total y por estratos de la corteza cerebral:

En la corteza cerebral y en particular la zona sensorimotora de los ratones atímicos se encontró un mayor espesor en la corteza cerebral respecto al ratón normal (Balb\ c). Este incremento en el grosor fue del 10% , pero las mediciones por

capas mostraron diferencias significativas solo en la capa ventricular del atímico respecto al normal en ambos grupos de animales estudiados (Fig. 7 y 8).

#### Características histológicas

El estudio morfológico no mostró alteraciones en los elementos histológicos de las capas corticales, solo se observó un ligero aumento en el tamaño de nucleolos en la corteza de ratones atímicos. Además, no se encontraron diferencias en los elementos gliales en las capas corticales respecto a los animales normales.

Los elementos tisulares de la sustancia blanca subyacente a la corteza cerebral de los ratones atímicos no fue diferente a las características observadas en esta misma región de los animales normales (Fig. 7 y 8).

#### C) CONFIGURACION MICROSCOPICA DEL CEREBELO:

En la capa molecular del cerebelo a nivel del vermis no se observaron cambios en la citoarquitectura ya que el ratón atímico al igual que la cepa normal presenta células típicas de Purkinje y de Golgi, además de las células estrelladas y células en canasta. Solo se encontró un aumento en los elementos gliales y la sustancia blanca se observa más gruesa y densa (Fig. 9 y 10).

#### D) CONFIGURACION MICROSCOPICA DEL TALLO CEREBRAL

En el tallo cerebral encontramos serias alteraciones particularmente en el núcleo vestibular medial (Mve) que consiste en degeneración y necrosis por todo el trayecto de éste (Fig. 13), las células se ven hipercromáticas, retraídas dejando un halo

pericelular. Además el bulbo reticular gigante celular (G1) se observa con varias fibras dispersas lo cual da la apariencia de laxitud y da la impresión de poseer menos células que el normal (falta hacer la cuantificación).

En el núcleo pontino se observan (Pn) células hipercromáticas con un perineuro muy laxo con imágenes en degeneración; estas mismas características presenta en núcleo olivar inferior (O1) (Fig.11 y 12).

## **2.- PARAMENTROS BIOQUIMICOS:**

### **A) CONCENTRACION DE ADN**

En los ratones atímicos de 60 días de edad se encontró que es un 30% mayor la concentración de ADN en el telencefalo, mientras que a los 90 días se observó el 62% menos. Ambas diferencias son estadísticamente significativas. Se observó una diferencia en el tallo cerebral en ambas edades en comparación con los normales de 21% menos a los 60 días y 16% menos a los 90 días, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (fig.14). El cerebelo de ratones atímicos a los 60 y 90 días mostró una concentración menor del 11 y 21% respectivamente cuando se compararon con los normales, aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas (Fig. 14).

### **B) CONCENTRACION DE ARN**

En telencefalo la concentración de ARN a los 60 y 90 días fue menor, con diferencia estadísticamente significativa (43 y 69% respectivamente) (Fig.15). En tallo cerebral se observó una variación en ambas edades del 43 y 77% menor en los atímicos a los 60 y 90 días respectivamente, de las cuales esta última

mostró ser estadísticamente diferente. La concentración de ARN en el cerebelo de 60 y 90 días de edad en los ratones atímicos mostró diferencias estadísticamente significativas de menos 49 y 72% respectivamente en relación con los controles (Fig.15).

#### C) CONCENTRACION DE PROTEINAS

En el telencéfalo de ratones atímicos de 60 días se observó una elevada concentración de proteínas en un 21%, mientras que a los 90 días solo se encontró un 33% menor. Si bien existieron diferencias en ambas edades, ninguna fué estadísticamente significativa (Fig.16). En tallo cerebral de ambas edades se observó una menor concentración de proteínas en ratones atímicos (del 6% a los 60 días de edad y del 62% a los 90 días). Finalmente el cerebelo a los 60 días de edad, a pesar de que mostró una menor concentración de proteína (23%), no fué estadísticamente significativo, mientras que a los 90 días, se observó una disminución significativa del 64% (Fig.16).

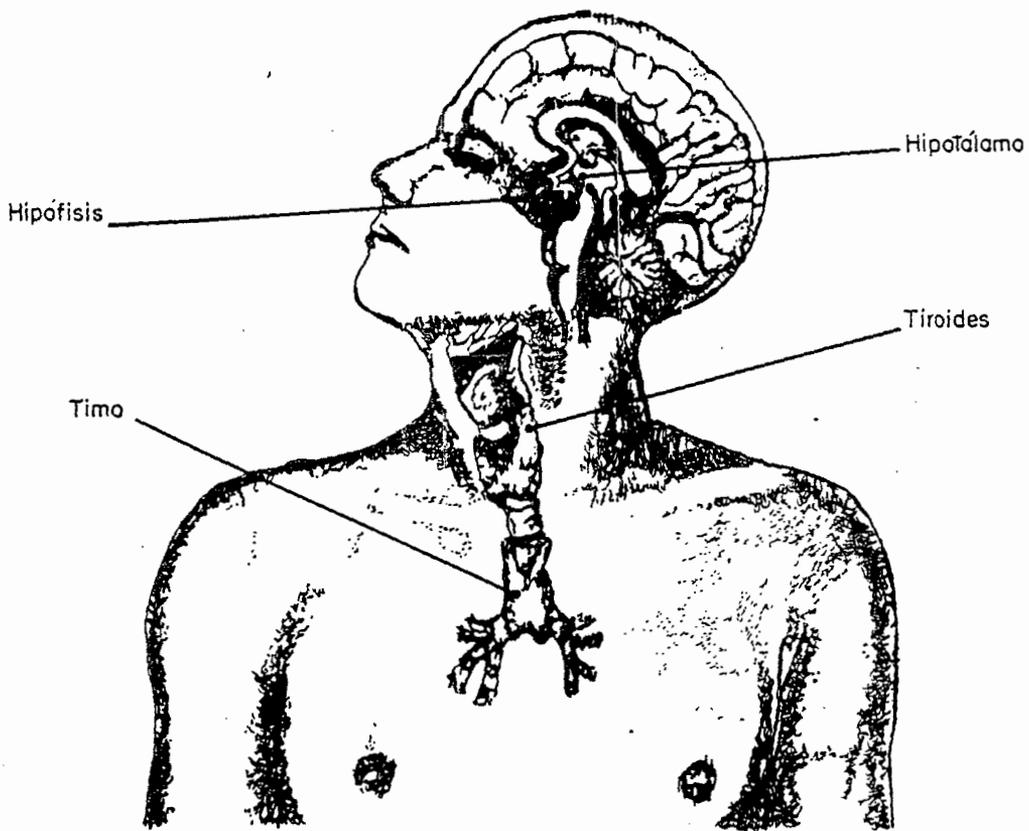


FIGURA 1 LOCALIZACION DEL TIMO EN EL HUMANO.

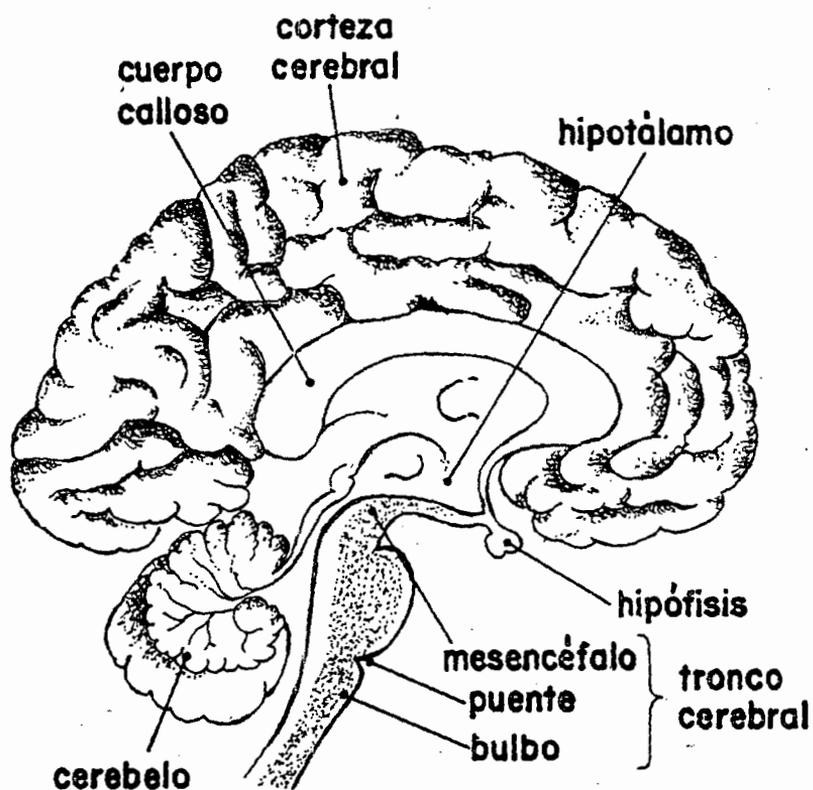


FIGURA 2 ESTRUCTURA MACROSCÓPICA DEL CEREBRO

# SOMATOMETRIA PESO CORPORAL

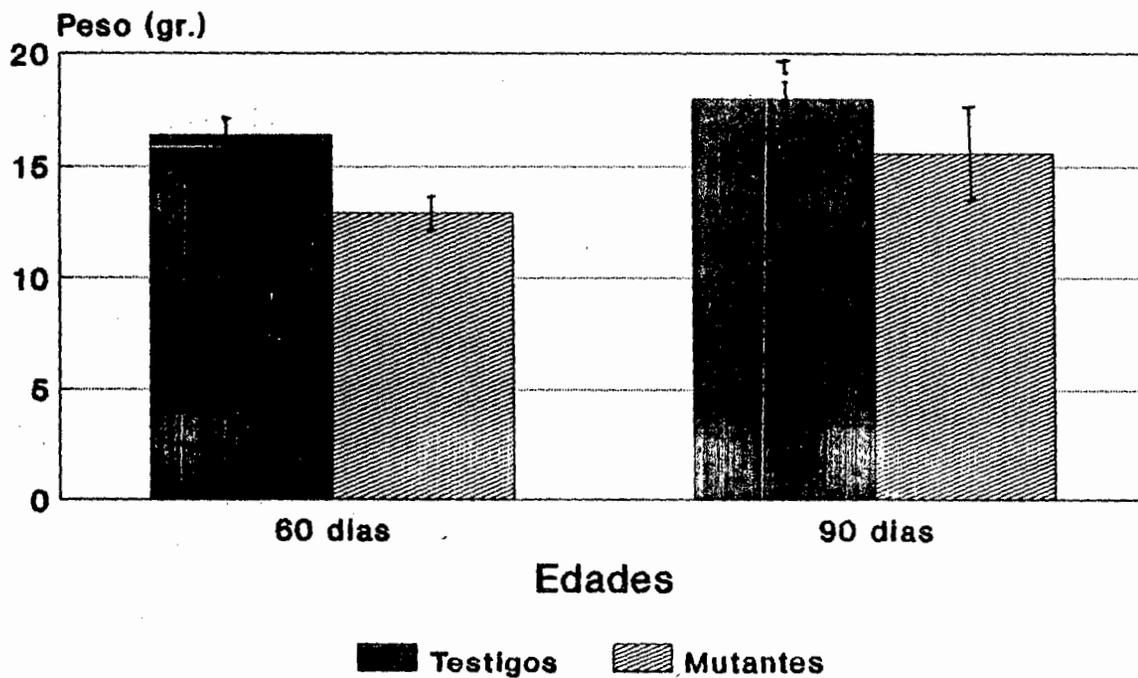


FIGURA 3

# SOMATOMETRIA

## TALLA CORPORAL

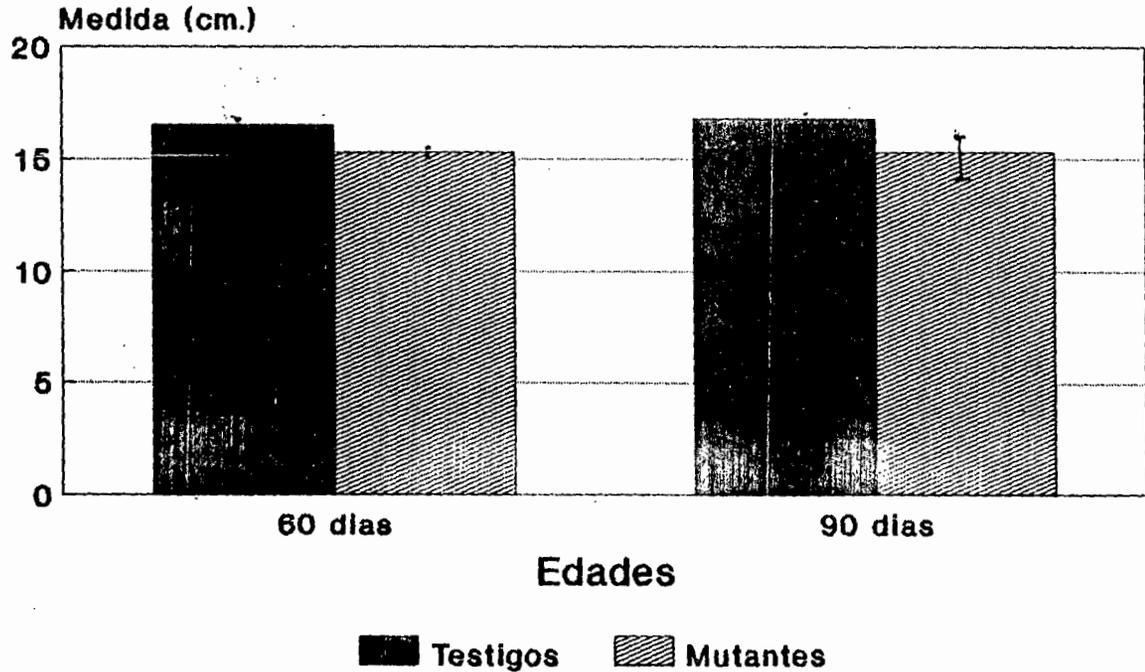


FIGURA 4

# SOMATOMETRIA TALLA DEL ENCEFALO

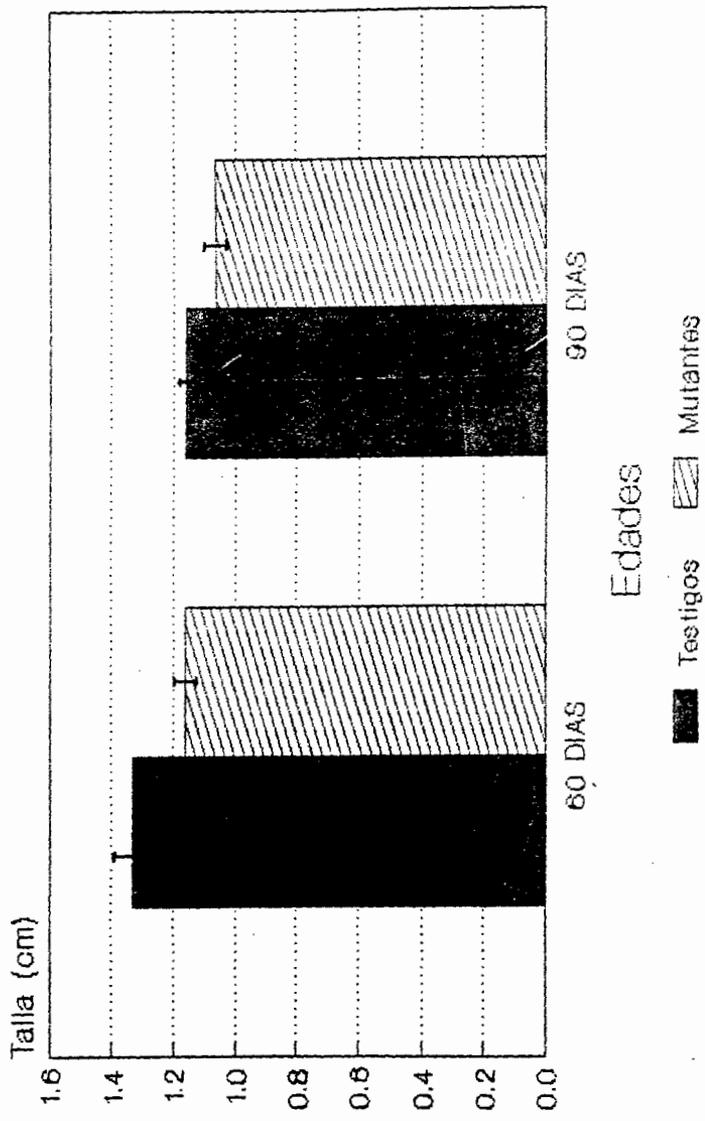


FIGURA 6

# SOMATOMETRIA PESOS POR REGIONES

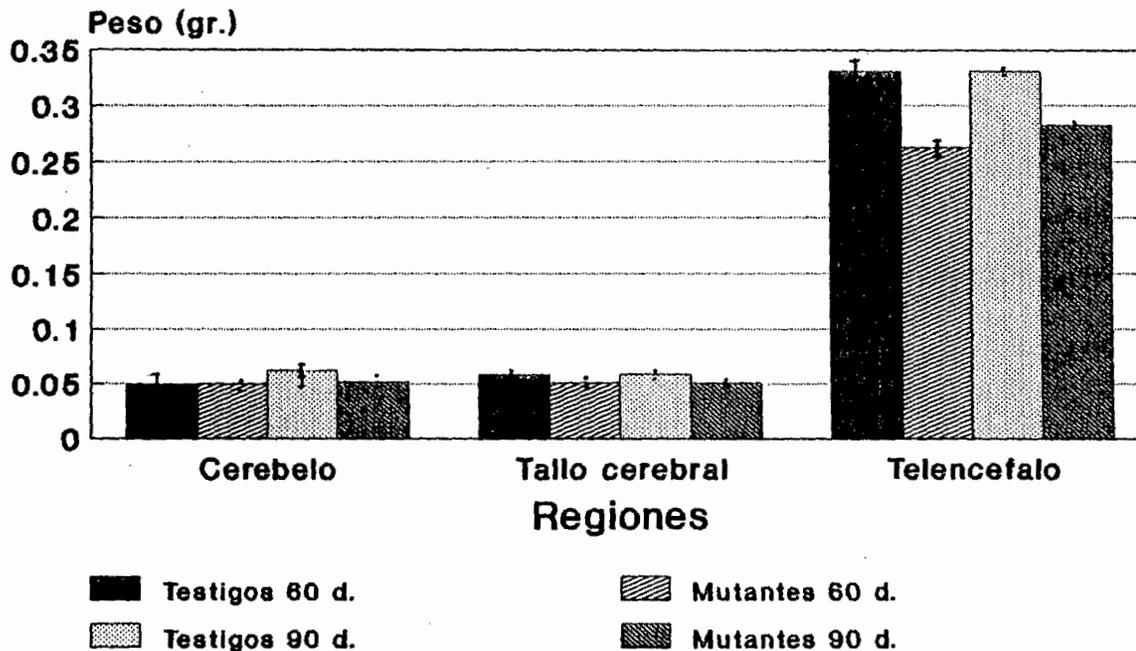


FIGURA 6

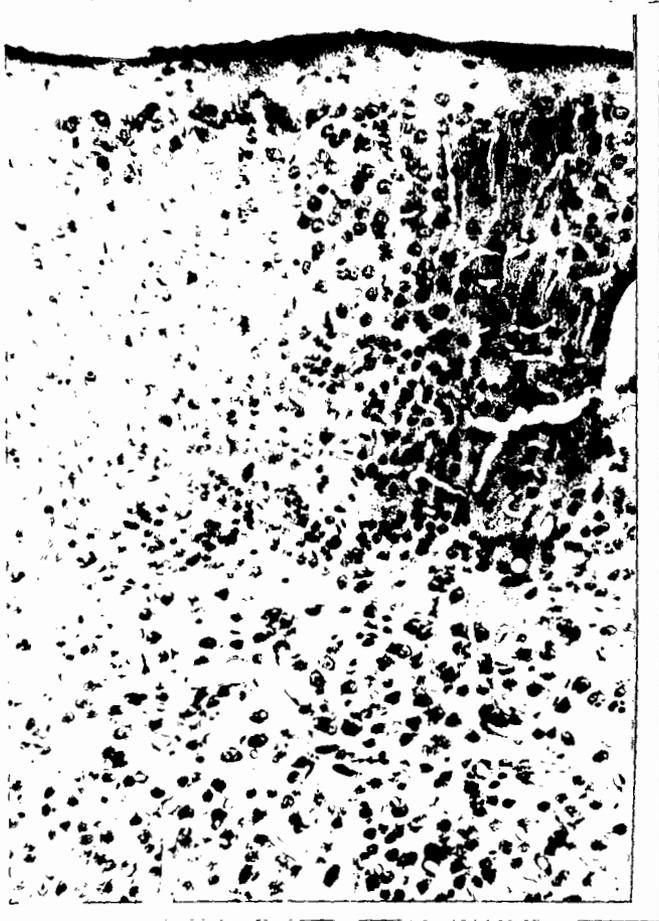


FIG. 7 FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE CORTEZA CEREBRAL  
(AREA SENSORIMOTORA) DEL RATON NORMAL.

CM = Capa molecular.  
CGE = Capa granular externa  
CP = Capa células piramidales  
CGI = Capa granular interna  
CG = Capa ganglionar  
CPM = Capa polimórfica

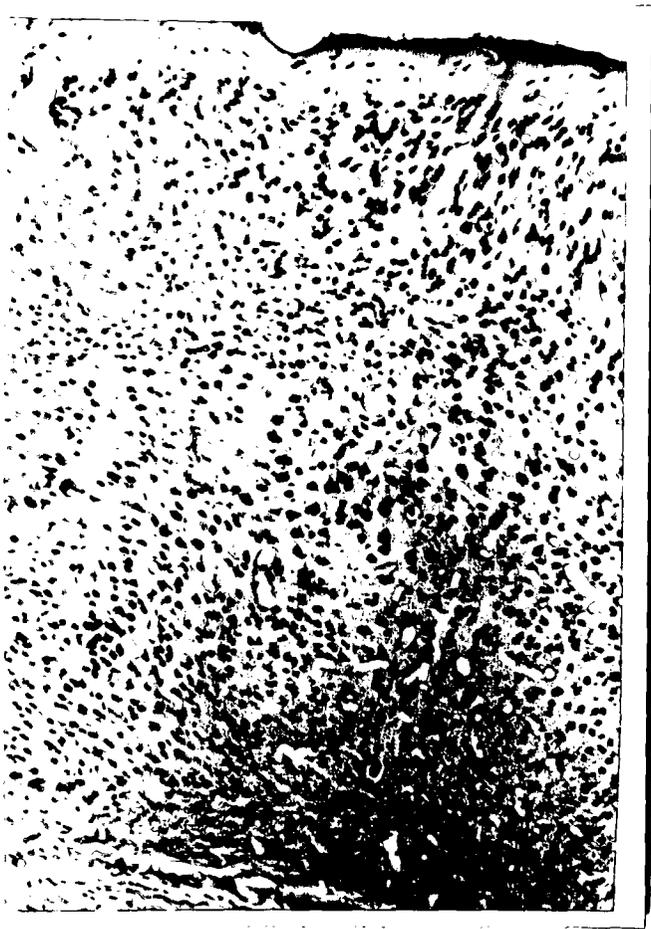


FIG.8 FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE CORTEZA CEREBRAL  
(AREA SENSORIMOTORA) DEL RATON ATIMICO.

CM = Capa molecular.  
CGE = Capa granular externa  
CP = Capa células piramidales  
CGI = Capa granular interna  
CG = Capa ganglionar  
CPM = Capa polimórfica

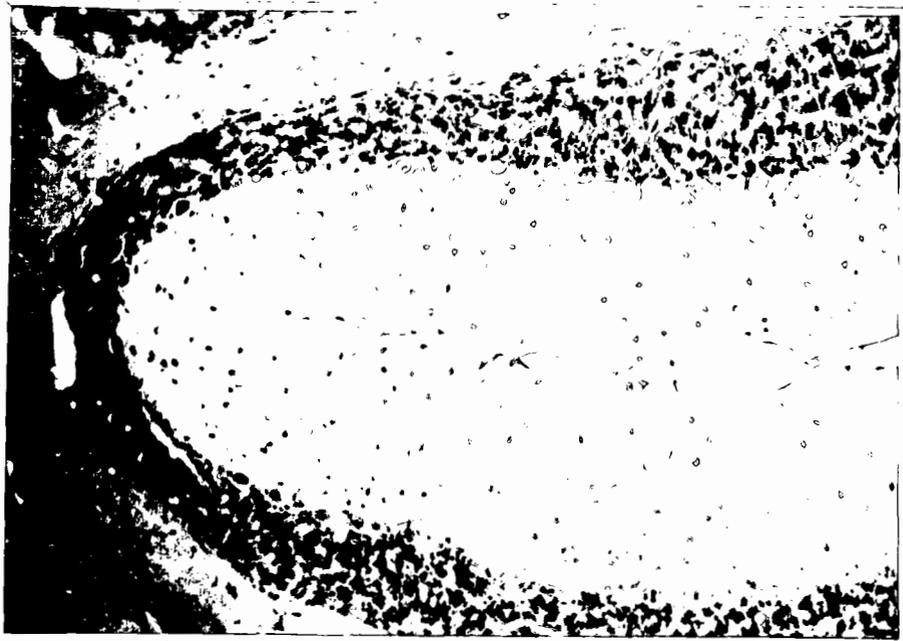


FIG.9 FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE CEREBELO A  
NIVEL DEL VERMIS DE RATON NORMAL.

CM = Capa molecular.

CCP = Capa de células de Purkinje.

CGI = Capa granular interna.



FIG.10 FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE CEREBELO A  
NIVEL DEL VERMIS DE RATON ATIMICO.

CM = Capa molecular.

CCP = Capa de celulas de Purkinje.

CGI = Capa granular interna.



FIG. 11 FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE TALLO CEREBRAL A  
NIVEL DE PUENTE Y MEDULA OBLONGADA DE RATON NORMAL.

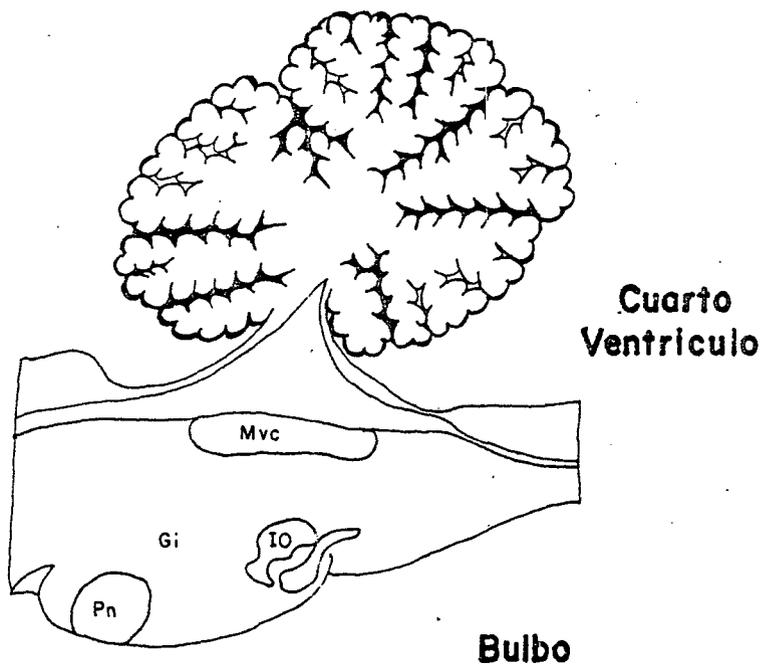
NVE = Nùcleo Vestibular Medial.



FIG. 12 FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE TALLO CEREBRAL A NIVEL DE PUENTE Y NEDULA OBLONGADA DE RATON ATIMICO.

NVE = Núcleo Vestibular Medial.

**Cerebelo**



**Cuarto  
Ventriculo**

**Bulbo**

**Mesencefalo**

Mvc - Núcleo Vestibular Medial

Gi - Núcleo Reticular Gigantocelular

IO - Oliva Inf.

Pn - Núcleo Pontino

**FIGURA 13**

# BIOQUIMICA

## CONCENTRACION DE ADN

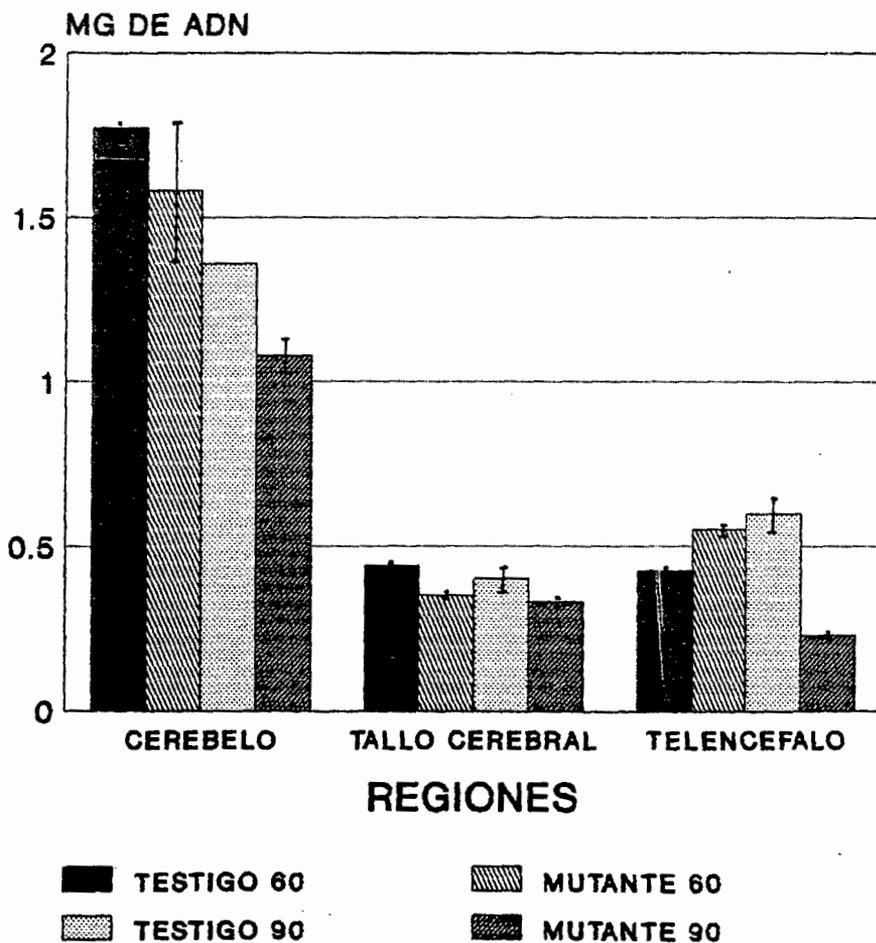


FIGURA 14

# BIOQUIMICA

## CONCENTRACION DE ARN

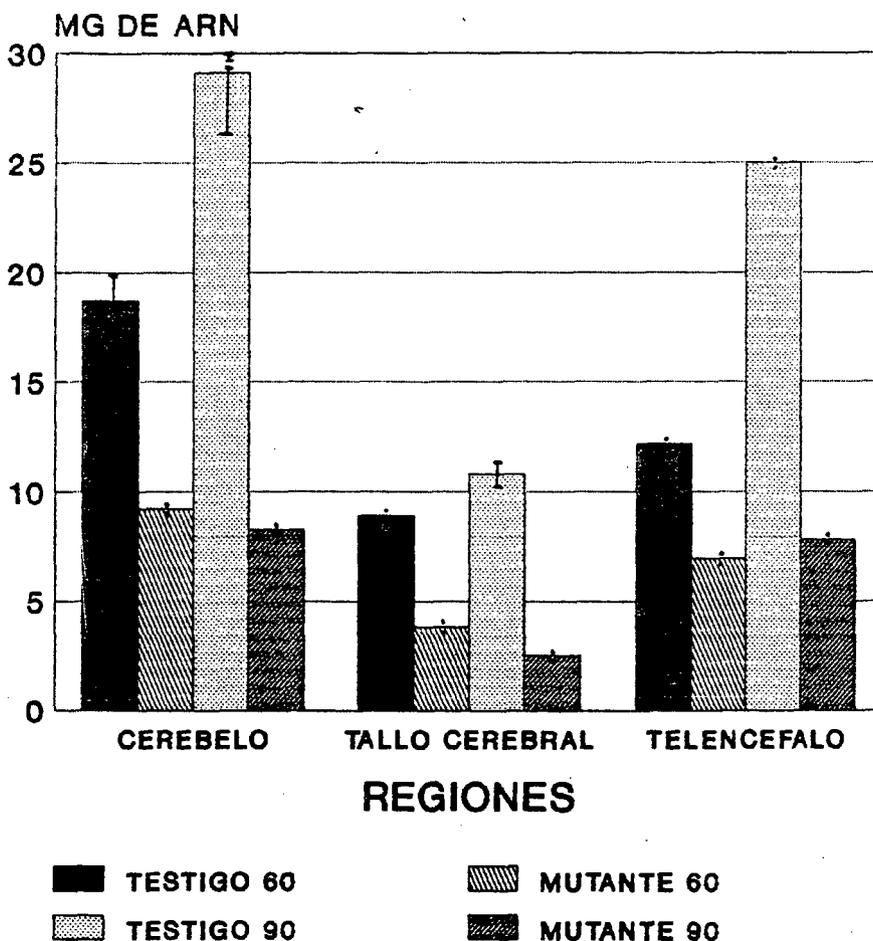


FIGURA 15

# BIOQUIMICA

## CONCENTRACION DE PROTEINA

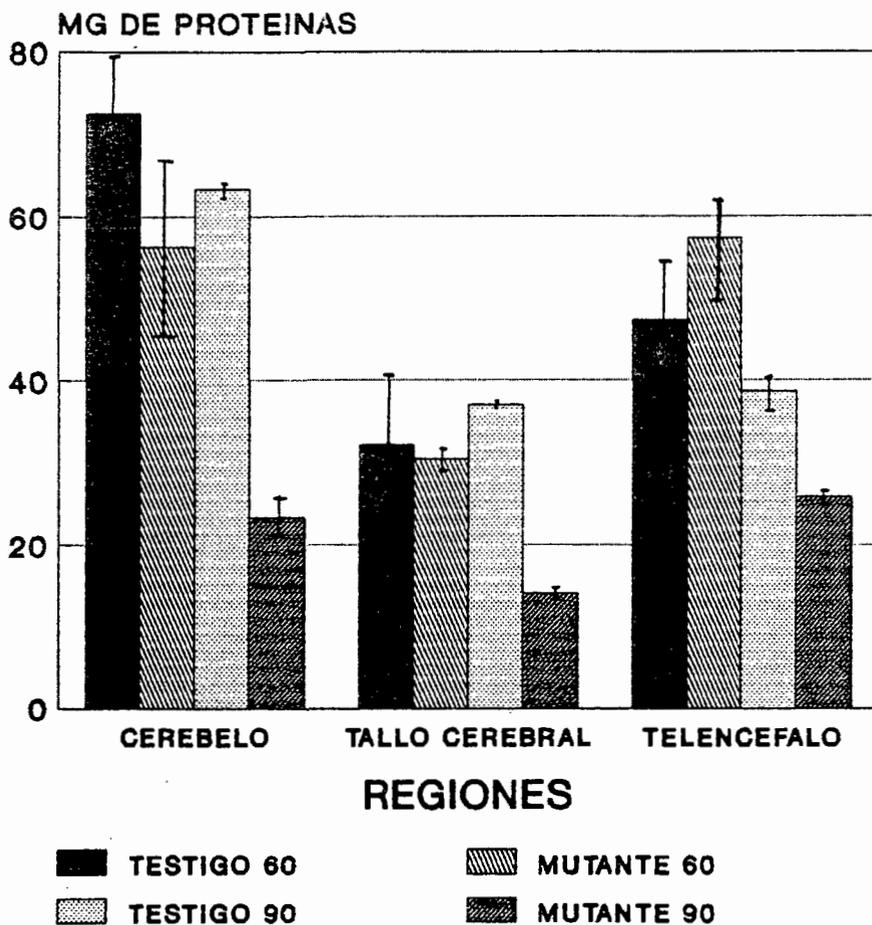


FIGURA 16

# DISCUSSION

Como se muestra en los resultados después de evaluar los parámetros bioquímicos y morfológicos en el sistema nervioso central del ratón atímico es evidente la deficiencia en lo referente al desarrollo corporal en general de éste respecto al ratón normal. A las edades estudiadas los ratones atímicos mostraron una disminución en su peso corporal, talla corporal y talla encefálica; relacionados directamente con trastornos endocrinos (cambios en la concentración de varias hormonas). Algunos trabajos sugieren que la ausencia congénita de timo en esta mutante de ratón provoca alteraciones morfológicas y funcionales de algunas glándulas endocrinas, siendo principalmente afectada la glándula tiroidea, la cual produce dos hormonas que son de suma importancia para el desarrollo y crecimiento normal del individuo, estas hormonas son la Triyodotironina (T3) y Tiroxina (T4) las cuales se encuentran disminuidas en cerca de la mitad de su concentración normal en el ratón atímico, esto apoya fuertemente los resultados del presente trabajo, además de que están de acuerdo a los resultados obtenidos por Rebiere et al., 1972, Legrand et al., 1964 y Gourdon et al., 1973.

Las modificaciones hormonales presentes en el ratón atímico provocan además alteraciones morfológicas y fisiológicas en el desarrollo del sistema nervioso central (Blalock, 1984; Angeletti et al., 1985; Giovanella, 1978), las hormonas mayormente involucradas en el proceso de diferenciación y maduración cerebral son la somatotropina y las hormonas tiroideas particularmente la tiroxina (T4), ya que estas hormonas estimulan la síntesis de proteínas y de esta manera aceleran el crecimiento corporal

particularmente del tejido nervioso.

En algunos estudios realizados en el ratón atímico se han observado bajas concentraciones de hormonas como la testosterona, 17 beta estradiol, prolactina, somatotropina, adrenocorticotropina, T3 y T4 ; además se han encontrado altas concentraciones de hormonas luteotrópicas (Giovannella y col. 1978) estas alteraciones endocrinas han sido establecidas en el período perinatal del ratón atímico ; se ha observado que se mantiene esta alteración en los ratones adultos (Pierpaoli, W., et al. 1974).

Las investigaciones sobre el estado hormonal del ratón atímico y timectomizado neonatalmente apoyan nuestra hipótesis de que el timo participa en la diferenciación estructural y funcional del cerebro y en la programación de ciertas funciones neuroendocrinas.

Los efectos de las hormonas en el desarrollo del sistema nervioso han sido estudiados ampliamente (Rebiere A. y Legrand J., 1972; Zárate A. 1989) en nuestro modelo experimental es evidente que durante la etapa de desarrollo la concentración hormonal esta disminuida (Giovannella, 1978). Esto provoca trastornos dentro del sistema nervioso aunque existen diferencias de sensibilidad en las distintas regiones, como se demuestra en nuestros resultados.

En relación a la concentración de Acido Desoxirribonucleico (ADN) que refleja aproximadamente el número de células en las diferentes regiones se encontró que el cerebelo del ratón atímico no presenta diferencias significativas en relación al normal, lo cual concuerda con lo que se observa en el estudio morfológico ya que no existen cambios a nivel celular solo la substancia

blanca se observa engrosada y densa. En lo que respecta a la concentración de ARN y proteínas el cerebelo de los ratones atímicos se ve afectado ya que a los 60 días de edad se ve disminuida la concentración de ARN en un 49% y a los 90 días en un 72%; la concentración de proteínas solo fue menor a los 90 días de edad en un 54% esto refleja que la deficiencia de hormonas tiroideas provoca cambios a nivel metabólico específicamente a nivel de síntesis de proteínas más que estructural.

Los cambios cuantitativos de maduración en la concentración de ADN en Telencéfalo no muestran diferencias importantes a los 60 días pero a los 90 días de edad los ratones atímicos mostraron una concentración menor del 62% de ADN.

Los datos morfológicos muestran un aumento en grosor de la corteza en un 10% aunque este aumento puede ser resultado de que el neuropilo se encuentra engrosado.

La concentración de ARN en el telencéfalo a los 60 días de edad se ve modificada en los ratones atímicos en un 43% menos que el normal y la concentración de proteínas muestra una disminución de 33% a los 90 días de edad.

Los resultados anteriores en cuanto a parámetros bioquímicos concuerdan con los reportados por Patel A. J. et al 1975 ; en un modelo de hipotiroidismo inducido por tiroidectomía neonatal.

En el tallo cerebral el estudio morfológico muestra degeneración celular y necrosis y la concentración de ADN a los 90 días de edad es reducida en los ratones atímicos en un 21% en comparación con los testigos, esta diferencia es estadísticamente

significativa. Esta disminución en el contenido de ADN refleja que los cambios a nivel morfológico que se observan están directamente relacionados con los cambios bioquímicos antes mencionados. En relación a la concentración de proteínas los ratones atímicos presentan a los 90 días un 62%. Además un 43 y 77% menos en concentración de ARN a los 60 y 90 días de edad respectivamente, estos resultados muestran que el efecto de la deficiencia hormonal en el ratón atímico tienen efectos principalmente a nivel metabólico.

# BIBLIOGRAFIA

- Altman, J. (1972a). Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. The external germinal layer and the transitional molecular layer. *J. Comp. Neur.* 145: 353- 398.
- Altman, J. (1972 b). Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. Phases in the maturation of purkinje cells and of the molecular layer. *J. Comp. Neur.* 145: 399- 463.
- Altman, J. y Anderson, W.J. (1972). Experimental reorganization of the cerebellar cortex. Morphological effects of limitation of all microneurons with prolonged x- irradiation started at birth. *J. Comp. Neur.* 146: 355- 406.
- Balázs, R., Kovács, S., Teichgraber, P., Cocks, A.W. y Eayrs, T. (1968) *Journal of Neurochemistry* 15: 1335- 1349.
- Barnet, A.B. y Lodge, A. (1961). Click evoked EEG responses in normal and developmentally retarded infants. *Nature*, 214: 252- 255
- Barr, L. Murray. (1979). *The Human Nervous System (An Anatomical Viewpoint)*. Edt. Harper & Row.
- Burton, K. (1956). A study of the conditions and mechanisms of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of desoxyribonucleic acid. *J. Chem.* , 62: 313- 323.
- Caviness, V. S. Jr. (1977). The reeler mutant mouse: a genetic experiment in developing mammalian cortex. *Soc. Neurosci. Symp.*, 2: 27- 47.

Curtis, H. (1983). *Biología*. Cuarta Edición

Editorial Médica Panamericana.

Das, G. D. (1977). Induction of mitosis in the differentiating purkinje cells of the cerebellum. *Acta Anat.*, 97: 435- 442.

Davies, A.J. S. & Carter, R. R. (1973). Thymus dependency. in: *Contemporary topics in immunobiology*. Plenum Press, New York.

Dishe, A. (1953). *The Nucleic Acid*. Ed. Chargaff, E. y Davison, J. N. Vol. 1 Academic Press.

Feria Velasco A. y Kanovasky, M. J. (1970) preservación óptima del Sistema Nervioso Central por perfusión con glutaraldehído para estudio estructural. *Arch. Invest. Med. (Mex)* 1: 201- 220.

Feria Velasco A., Martínez de Muñoz Dalila y Rubio Donnadieu Francisco (1986).

Epilepsia.

Un Enfoque Multidisciplinario.

Fogh, J. y Giovanella, B. C. (1978). *The nude mouse in experimental and clinical Research*. Academic Press, New York.

Giovanella, B. C. (1978). *The nude mouse in experimental and clinical research*. Ed. by Sorgen, F., Giovanella, B. C. Acad. Press. Inc.

Gourdon, J., Clos, J., Coste, C., Dainat, J. y Legrand, J. (1973). Comparative effects of hipothyroidism, hiperthyroidism and undernutrition on the proteic and nucleic acid contents of the cerebellum of the young rat. J. Neurochem. 21: 861- 871.

Guyton, A. C. (1977). Fisiología Médica.  
Editorial Interamericana.

Ham, W. H. (1987)

Hernández-García, A. Márquez- Monter Héctor. (1977) El ratón desnudo atímico como modelo experimental. Revisión bibliográfica. Patología. 15: 119- 141.

Junqueira, L. C., Carneiro J. Histología Básica.  
Salvat (1973).

Larsell, O. (1952). The morphogenesis and adult pattern of lobules fissures at the cerebellum at the white rat. J. Camp. neurol. 97: 281- 356.

Legrand, J. (1967). Analyse de l' action morphogenetique des hormones thyroïdiennes sur le cerevelet du jeune rat. Archives de anatomie microscopique. Tomo 56, No. 3-4, 205- 244.

Leeson, S. T., Leeson, R. C. (1985), Histología, Cuarta edición. Editorial Interamericana.

López Antónez. (1986). Anatomía Funcional del Sistema Nervioso

- Central. Ed. Limusa.
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. y Randal, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265- 275.
- Martínez, F. G. (1973). Neuroanatomía Humana. Quinta edición. Depto. Editorial de La Universidad Autónoma de Guadalajara. 3- 15.
- Muller, R.J., La Vail, M. M. (1975). Two new types of retinal degeneration in cerebellar mutant mice. *Natura* 258: 528- 530.
- Nicholson, J. L. , y Altman, J. (1972). The effects of early hypo and hyperthyroidism on the development of rat differentiation. *Brain Res.* 44: 13- 23.
- Nieuwenhuys, R., y Nicholson, C. (1969). A survey of the general morphology the fiber connection, and the possible functional significance of the gigante cerebellum of mormyrd fishes, in neurobiology of cerebellas evolution, and development. Llinas, R. Ed. Amer. Med. Assoc. Chicago. Sec II, 107- 135.
- Noback Ch. R., Demarest, R.J.. Sistema Nervioso Humano (fundamentos de Neurobiología) Ed. Mc. Graw Hill. 1980.
- Ortiz, G.G. Dueñas-Jiménez, J. M. En prensa.
- Patel, A.J., Rabie A., P.D. Lewis., y Balázs (1976). Effects of thyroid deficiency on postnatal cellformation in the rat brain: a biochemical investigation. *Brain Research.*, 104:

- Pierpaoli, W. y Sorkin, E. (1972). Alteration of adrenal cortex and thyroid in mice with congenital absence of the thymus. *Nature, New Biol.*, 238: 282- 285.
- Pierpaoli, W., Basedovsky, H. O. (1975) Role of the thymus in programming of neuroendocrine functions. *Clin. Exp. Immunol.* 20: 323- 338.
- Pierpaoli, W., Kopp, H.G., Bianchi, E. (1976). Interdependence of thymic y neuroendocrine functions in ontogeny. *Clin. Exp. Immunol.* 24: 501- 506.
- Plummer, D.T. (1981) *Introducción a la Bioquímica práctica* . Ed. Mc. Graw Hill.
- Rebiere, A. y Legrand, J. (1972). Effects comparés de la sousalimentation, de l' hypothyroidisme et de l' hypertiroidisme sur la maturation histologique de la zona moleculaire du cortex cerebeloux chez le jeune rat. *Achives d' anatomie microscopique.* Tomo 61, no. 2 105- 126.
- Rebiere, A. y Dainat, J. (1976). Etude ultraestructurale quantitative du pericaryon de la cellule de purkinje et de son environnement chez le ages de 21 hours. *Exdp. Brain Res.* 25: 511- 527.
- Rygaard, J. (1969). Immunobiology of the mouse mutant "nude" *Acta PATH. Microbiol. Scand.* 77: 761.

Salas, M., Díaz, S., y Nieto, A. (1974) Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. Brain Res. 73: 139- 144.

Salas, M., Díaz, S. y Cintra, L. (1977) Thyroid and nutritional influences on electrocortical activity development en Grave, G.D. (ed.) Thyroid hormones and Brain Development. Raven Press. New York. 225- 269.

Schapiro, L., Vukovich, K., y Globus, A. (1973) Effects of neonatal thyroxine and hydrocortisone administration on the development of dendritic spines in the visual cortex of rats. Exp. Neurol. 40: 286- 296.

Sidman, R. L., Grees, M. C. (1970). Les mutantes pathologiques chez l'animal leur interet pour la reserche biomediale. Ed. M. Sabourdy. 69- 79 Paris.

Sidman, R. L., Green, M. C. y Appel, S. H. (1965). Catalogy of the neurological mutants of the mouse. Cambridge: Harvard Univ. Press. p.82.

Slater, J. R. (1986). Experiments in Molecular Biology.  
Ed. Humana Press. Clifton,  
New Jersey.

Snedekar, G. W. y Cochran W. G. (1967). Statistical Methods. Ed.  
G. Iowa State University Press Ames Iowa.

Solomon, E.P. , Ville, C. A., Davies, F. W.

Biologia.

Ed. Interamericana. 1987.

Verne, S. C. Jr. y Rakic, P. (1978). Mechanism of cortical development a view from mutation in mice. Ann. Rev. Neurosc. 1: 297- 326.

Vicent, J.D. y Simonnet G. (1986). "Les Neurohormones", J Physiol 81: 51

Wortis, H. H. (1971). Immunological responses of nude mice, Clin. Exp. Immunol. 8: 305.

Zamenhof, S. (1976). Final Lumbar of purkinje and other large cells in the chick cerebellum influenced by incubation temperatures during their proliferation. Brain Res. 109: 392-394.

Zamenhof, S. y Van Marthens, E. 1974. Study Factors influencing prenatal brain development. Molec. Cell Biochem. 4: 157- 168.

Zarate, A. (1989). El Sistema Neuroendocrino. Ciencia. 40: 11- 16



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
FACULTAD DE CIENCIAS

Sección .....  
Expediente .....  
Número 0445/90 .....

SRITA. MARTHA CATALINA RIVERA CERVANTES  
P R E S E N T E . -

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "ESTUDIO ESTRUCTURAL Y BIOQUIMICO DE LA CORTEZA CEREBRAL, - CEREBELO Y TALLO CEREBRAL DEL RATON ATIMICO ADULTO" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos a usted que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis al M.en C. Genaro Gabriel Ortiz.



A T E N T A M E N T E  
"PIENSA Y TRABAJA"  
Guadalajara, Jal., Marzo 20 de 1990  
EL DIRECTOR

ING. ADOLFO ESPINOSA DE LOS MONTEROS CARDENAS

FACULTAD DE CIENCIAS

EL SECRETARIO

M. EN C. ROBERTO MIRANDA MEDRANO

c.c.p. El M.en C. Genaro Gabriel Ortiz, Director de Tesis.-Pte.  
c.c.p. El expediente de la alumna.

mjsd

Al contestar este oficio cifrese fecha y número

ING. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTEROS  
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
P R E S E N T E.-

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que la Srta. Martha Catalina Rivera Cervantes, pasante de la Licenciatura en Biología, ha concluido satisfactoriamente el trabajo de Tesis que se titula:

**"ESTUDIO ESTRUCTURAL Y BIOQUIMICO DE LA CORTEZA CEREBRAL,  
CEREBELO Y TALLO CEREBRAL DEL RATON ATIMICO ADULTO."**

Asimismo le informo que despues de revisar el manuscrito final de dicha Tesis, esta cumple con los requisitos actualmente solicitados por la Facultad de Ciencias a su digno cargo.

Aprovecho la ocasion para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE.

M. en C. Genaro Gabriel Ortiz