

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

ESCUELA DE GRADUADOS



CAMBIOS HISTOLOGICOS EN CORTEZA CEREBELOS Y EN LA  
SUBSTANCIA BLANCA DEL CEREBELO Y TALLO CEREBRAL  
DURANTE EL DESARROLLO POSNATAL DE LA RATA  
MUTANTE DEFICIENTE EN MIELINA.

TRABAJO QUE CON EL CARACTER DE TESIS PRESENTA EL C.

**Q.F.B. JUDITH MARCELA DUEÑAS JIMENEZ**

PARA OPTAR AL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOMEDICAS**  
(BIOLOGIA CELULAR)

GUADALAJARA, JALISCO. 1990

1. TITULO.-

CAMBIOS HISTOLOGICOS EN CORTEZA CEREBELOSA Y EN LA  
SUBSTANCIA BLANCA DEL CEREBELO Y TALLO CEREBRAL DURANTE EL  
DESARROLLO POSNATAL DE LA RATA MUTANTE DEFICIENTE EN MIELINA.

ESTA TESIS FUE ELABORADA BAJO LA DIRECCION DEL DR. EN C.  
ALFREDO FERIA VELASCO EN EL LABORATORIO DE NEUROFATOLOGIA  
EXPERIMENTAL EN LA DIVISION DE PATOLOGIA EXPERIMENTAL DE LA  
UNIDAD DE INVESTIGACION BIOMEDICA DE OCCIDENTE I. M. S. S.  
GUADALAJARA JALISCO MEXICO.

JULIO (1990).

DR. ALFREDO FERIA VELASCO:

NO ES TAN SOLO LA REALIZACION DE ESTA TESIS, LO QUE ME LLENA DE SATISFACCION, SINO EL SABER, QUE CUENTO CON UN GRAN AMIGO Y MAESTRO QUE HA SABIDO TRANSMITIRME SUS CONOCIMIENTOS Y EXPERIENCIAS LAS CUALES ME HAN MOTIVADO A CONTINUAR EN LA CREATIVA TAREA DE LA INVESTIGACION.

MUCHAS GRACIAS.

GENARO ORTIZ:

POR LA CONFIANZA Y ENTUSIASMO QUE SUFISTE ACRECENTAR, EN MI TRABAJO DE INVESTIGACION, HE LOGRADO CONCLUIR ESTA TESIS, POR LO QUE QUIERO EXPRESARTE MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO.

A MI FAMILIA: PADRES Y HERMANOS:

SON USTEDES QUIEN CON SU EJEMPLO ME HAN INFUNDIDO EL DESEO CONSTANTE DE SUPERACION Y REALIZACION, Y ADEMAS ME HAN BRINDADO SU AMOR, CON EL CUAL HE PODIDO CONTRARRESTAR LOS OBSTACULOS DIARIOS.

INDICE. --

1.-	TITULO .....	2
2.-	ANTECEDENTES .....	3
2.1	DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO.....	3
2.2.-	HISTOGENESIS DEL TEJIDO NERVIOSO.....	7
2.3.-	ORIGEN DE LA GLIA.....	7
2.4.-	DESARROLLO POSNATAL DEL CEREBELO EN ROEDORES.....	12
3.-	INTRODUCCION.....	15
3.1.-	MIELINIZACION; CONCEPTOS BASICOS.....	15
3.2.-	MIELINIZACION CENTRAL. ....	16
3.3.-	MUTANTES DEFICIENTES EN MIELINA.....	17
3.3.1.-	JIMPY (JP).....	17
3.3.2.-	DEFICIENTE EN MIELINA. (MD).....	18
4.-	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	25
5.-	HIPOTESIS.....	26
6.-	OBJETIVO GENERAL.....	27
6.1	OBJETIVOS PARTICULARES.....	27
7.-	MATERIAL Y METODOS.....	28
8.-	RESULTADOS.....	30
9.-	DISCUSION.....	36
10.-	CONCLUSIONES.....	39
11.-	BIBLIOGRAFIA.....	40
12.-	TABLAS Y FIGURAS.....	48

## 2. ANTECEDENTES.-

### 2.1 DESARROLLO DEL SISTEMA NERVISIO.-

Los principales eventos que tienen lugar durante el desarrollo embrionario y fetal del cerebro se conocen desde el siglo pasado. Sin embargo, es poco realmente lo que se sabe acerca de los acontecimientos celulares subyacentes que dan lugar a la formación de regiones particulares del cerebro y sus interconexiones. El sistema nervioso en los mamíferos se origina del ectodermo como una lámina plana de células sobre la superficie dorsal del embrión en desarrollo llamada placa neural y éste tejido subsecuentemente se dobla y forma una estructura alargada y hueca denominada "tubo neural". En el extremo cefálico del tubo neural se forman tres vesículas principales que configurarán el cerebro anterior, medio y posterior (Cowan, 1979).

En el desarrollo de cualquier parte del cerebro pueden identificarse ocho fases principales, que en orden de aparición son las siguientes: 1) Inducción de la placa neural, 2) Proliferación de las células en diferentes regiones, 3) Migración de las células desde la región en que se generan a los sitios donde finalmente residirán 4) Agregación de las células para formar partes identificables del cerebro, 5) Diferenciación neuronal, 6) Formación de conexiones con otras neuronas, 7) Muerte selectiva de ciertas células y 8) Eliminación de algunas de las conexiones

formadas inicialmente y la estabilización de otras.

En este capítulo sólo se mencionan las 3 primeras fases del desarrollo del sistema nervioso.

1.- Se denomina INDUCCION al proceso por el cual las células de la capa externa del embrión se transforman en tejido especializado, del que se originan el cerebro y la médula espinal. Se conoce desde 1920 que éste evento crítico, es una interacción del ectodermo con el mesodermo.

2.- En la fase de PROLIFERACION, el número de neuronas que se forman inicialmente en cualquier región del cerebro está determinado por los 3 factores siguientes: a) la duración del período proliferativo total que varía de unos pocos días a varias semanas, según la región del cerebro; b) la duración del ciclo celular, que es de unas cuantas horas y conforme progresa el desarrollo se prolonga hasta días; c) el número de células precursoras totales de las que se deriva la población neuronal (Cowan, 1979)

3.- Como la mayoría de las neuronas se generan en la zona ventricular del tubo neural deben pasar por lo menos por una fase de MIGRACION para llegar a su destino final. En el cerebro posterior algunas de las células en la región subventricular sufren una segunda migración para colocarse bajo la superficie del cerebelo en desarrollo, donde generan una zona proliferativa conocida como "capa granular externa". En el cerebro humano la proliferación en esta capa continúa por varias semanas y da lugar a la mayoría de las interneuronas en la corteza cerebelosa y a los billones de

células granulares que forman un rasgo distintivo del cerebelo (Cowan, 1979). El proceso de migración neuronal parece ser, en la mayoría de los casos, de tipo ameboide. Las células migratorias envían una prolongación primaria que se adhiere por sí misma a algún sustrato apropiado; el núcleo fluye o es atraído hacia la prolongación y el resto de ésta se retrae. Es un proceso lento y la velocidad promedio de migración está en el orden de una décima de mm por día. En algunos casos la célula no migra como un todo; en su lugar, en un estadio inicial de su desarrollo, empieza a formar algunas de sus prolongaciones (Cowan, 1979). Posteriormente, el cuerpo celular comienza a moverse cada vez más lejos de sus primeras prolongaciones. La migración de celular es un fenómeno esencial en el desarrollo del sistema nervioso, por tal motivo, es de sumo interés estudiar cómo y cuándo las células inician su migración y la dirección que siguen.

Se sabe que durante el desarrollo existen células gliales especializadas en el cerebro cuyos cuerpos celulares residen dentro de la zona ventricular y sus prolongaciones se extienden en dirección radial a la superficie. Bignami y Dahl en 1973 describen que las fibras gliales de Bergmann cruzan la capa granular externa y la capa molecular de la corteza cerebelar en el tercer día de vida posnatal en la rata. Durante la segunda semana de vida, se inicia la migración de las células granulares externas y las fibras gliales de Bergmann adquieren su forma madura que se distinguen como prolongaciones rectas y paralelas que se extienden desde la capa de células de Purkinje hasta la membrana de la glia



limitante sobre la superficie del cerebelo ( Del Cerro y Schwars, 1976) (lámina 1). En función de que las fibras gliales de Bergmann se encuentran presentes antes de que se inicie la migración y persisten durante ésta, en estrecha relación con las neuronas, Rakic y Sidman en 1973 postularon que las células granulares en la corteza cerebelosa de rata son dirigidas hacia sus sitios definitivos (la capa granular interna) por medio de tales prolongaciones gliales y constituyen así, un apoyo para la migración. Rakic y Sidman en (1973a) postularon también que en el ratón mutante "weaver" las prolongaciones de la glia radial de Bergmann degeneran en una fase relativamente precoz durante el desarrollo y como resultado, la migración de la mayoría de las células granulares se encuentra severamente alterada.

Si se considera la complejidad del fenómeno de migración, es muy posible que algunas células sean dirigidas erróneamente y ocupen una posición anormal. Sin embargo, normalmente estas células desubicadas son eliminadas por degeneración y muerte durante los últimos estadios del desarrollo.

## 2.2 HISTOGENESIS DEL TEJIDO NERVIOSO.-

El tejido nervioso está formado principalmente por neuronas y glía; esta última se subdivide a su vez en astrocitos, oligodendrocitos, microglia y células ependimarias. En conjunto se consideran como un sistema dinámico de importancia fundamental en el intercambio metabólico entre las neuronas del sistema nervioso central (S.N.C.) y su medio.

## 2.3 ORIGEN DE LA GLIA.-

Se considera que los precursores más primitivos de los oligodendrocitos se encuentran entre las células del tubo neural y son morfológicamente semejantes a los precursores de neuronas y astrocitos (Fujita 1963). Smart y Leblond en 1961, observaron que las células no neuronales sólo se identifican después de que el período principal de proliferación neuronal termina. Cuando se comparan con las neuronas, esas células son de menor tamaño y contienen un núcleo pequeño que se tiñe de manera intensa. Esas células han sido llamadas glioblastos, de acuerdo con la hipótesis de que madurarían como oligodendrocitos y/o astrocitos, conforme se avanza en el desarrollo. Este punto de vista fue apoyado por el hallazgo de que esas pequeñas células se marcan intensa e inmediatamente después de una inyección con timidina tritiada, mientras que los oligodendrocitos y

astrocitos contienen poca marca (Skoff y cols, 1976 a, b). Con estos experimentos se obtuvieron las primeras evidencias de que la glía madura es posiblemente mitóticamente inactiva y la secuencia del marcaje observado apoya la idea de la transformación de un glioblasto multipotencial a células gliales maduras.

Caley y Maxwell en 1968 examinaron el cerebro de ratas jóvenes en estadios sucesivos de la maduración y encontraron una continuidad de tipos celulares en el intervalo de células "indiferenciadas" hasta unos astrocitos y oligodendrocitos que ya podían ser reconocidos morfológicamente. A estas últimas células posteriormente los autores las denominaron astroblastos y oligodendroblastos respectivamente. Sin embargo, no presentaron suficientes evidencias acerca de si provienen de dos líneas celulares distintas. Otro tipo de célula glial inmadura es el "espongioblasto", que presenta en su citoplasma numerosas mitocondrias, varios ribosomas libres, un prominente complejo de Golgi, muy poco retículo endoplásmico rugoso y prolongaciones citoplasmáticas. Sin embargo, no pudo ser clasificado como oligodendrocito o astrocito. El espongioblasto es capaz de generar, tanto a los astroblastos, como a los oligodendroblastos. Estas últimas células fueron distinguidas con base en la morfología de sus formas maduras; que se caracterizan, en el caso de los oligodendrocitos, por la emisión de una prolongación citoplasmática que hace contacto con los axones y los recubre, mientras que las prolongaciones de los astrocitos

crecen por los axones y forman pies subpiales y perivasculares. Otra característica que los diferencia es que en los astrocitos se encuentran numerosos filamentos citoplásmicos mientras que en los oligodendrocitos no se observan.

Vaughn en 1971 caracterizó tres tipos distintos de células gliales inmaduras: el "glioblasto pequeño", el "glioblasto grande" y el "precursor glial grande". El glioblasto pequeño fue caracterizado por un incremento en el número de mitocondrias y un retículo endoplásmico rugoso muy prominente. Vaughn creía que el "pequeño glioblasto" representaba el primer paso en la diferenciación de las células neuroectodérmicas. También sugirió que podrían entonces diferenciarse o continuar su división y que finalmente debería crecer para transformarse en el "glioblasto grande". El "glioblasto grande" se caracteriza por contener en su citoplasma numerosos grupos de ribosomas muy poco retículo endoplásmico rugoso y un núcleo de cromatina poco condensada. Basado en las características anteriores Vaughn sugirió que el "glioblasto grande" es parte del ciclo celular del "pequeño glioblasto". Este autor consideró que el conjunto de células formadas por el "glioblasto pequeño", el "glioblasto grande" y el "precursor glial grande" debían corresponder a los espongioblastos descritos por Caley y Maxwell en 1968.

Philips en 1973 realizó un estudio sobre la gliogénesis a nivel de médula espinal durante el desarrollo en el mono y encontró lo siguiente: En el feto de 49 a 70 días, casi todas

las células de la zona marginal del manto que pudieron ser clasificadas como glioblastos se transforman en astroglia, (con varias formas transicionales).

La formación de los oligodendrocitos depende de la migración de las células del manto que Philips denominó como oligoblastos. En la zona del manto no se encontraron células de transición entre los oligoblastos y sus precursores, los glioblastos, por lo que Philips postuló que cualquier transformación debería ocurrir en esta zona.

Skoff y cols. en 1976 e Imamoto y cols. en 1978 observaron que los precursores inmediatos de astrocitos y oligodendrocitos son lo suficientemente diferenciados para ser distinguidos el uno del otro y aún son capaces de proliferar. Skoff y Price en 1980 postularon formalmente que después del nacimiento, las líneas celulares de astrocitos y oligodendrocitos se encuentran separadas, con la posible existencia de glioblastos multipotenciales durante el período embrionario en los roedores. Así la línea astrogliar puede ser rastreada en el período embrionario desde los 15 días de gestación en el nervio óptico de la rata, en tanto que la línea oligodendrogliar puede ser rastreada únicamente después del segundo día de vida posnatal. La morfología de esa astroglia embrionaria es muy similar a la morfología de la glía radial encontrada en otras áreas del S.N.C. ( Del Cerro y Swars, 1976). Se encuentran formas intermedias entre la glía radial y los astrocitos ( Schmechel y Rakic, 1979). Esas formas intermedias pueden poseer prolongaciones

orientadas en dirección radial de forma alargada y / o prolongaciones estrelladas características de los astrocitos. Recientemente se ha demostrado que la glía radial contiene proteína fibrilar acídica, un componente de los filamentos de 9 nm común en los astrocitos (Levitt y cols., 1981). Y ha sido posible trazar una línea de células con características astrocíticas en etapas iniciales del desarrollo del tubo neural, cuando la proliferación neuronal aún persiste (Larsell 1935).

## 2.4 DESARROLLO POSNATAL DEL CEREBELO EN ROEDORES

Durante el desarrollo embrionario, la estructura del cerebelo se adquiere parcialmente. En ésta etapa se originan las distintas estirpes celulares que lo constituirán; la maduración y el desarrollo total se alcanza durante el período inicial de la etapa posnatal. Las estirpes celulares se agrupan en dos zonas denominadas zona de células proliferativas y zona de células premigratorias, respectivamente. La zona proliferativa que se sitúa en la capa granular externa de la corteza cerebelosa está constituida por glioblastos, meduloblastos y neuroblastos. Estas células forman un estrato conformado por 4 o 5 células de espesor. Es importante mencionar que en este estrato existe una rápida proliferación que se inicia desde el nacimiento. Una vez terminada la proliferación, las células antes mencionadas se agrupan en el estrato denominado zona premigratoria. De este estrato avanzarán hacia su posición definitiva (Altman y Anderson, 1973). Las células migratorias, principalmente los neuroblastos, conformarán el estrato de células granulares internas. Es relevante mencionar que estas células migratorias a su paso dejan prolongaciones que conformarán las fibras paralelas del cerebelo.

Otra célula de suma importancia en el desarrollo de la corteza cerebelosa es la célula de Purkinje, que a diferencia

de la célula granular proviene de la zona ventricular. En su maduración se distinguen cuatro fases: durante la primera fase, las células de Purkinje, que son fusiformes, se encuentran dispersas y no alineadas en una monocapa. En la segunda fase, el soma de la célula de Purkinje, presenta dos polos de crecimiento, uno que dará origen al árbol dendrítico y el otro al axón. En ésta fase, el soma se encuentra rodeado de múltiples prolongaciones perisomáticas, a las que llegarán las fibras trepadoras, y establecerán sinápsis transitorias. Durante la tercera fase, las prolongaciones perisomáticas desaparecen de la célula de Purkinje, así como también las sinápsis de las fibras trepadoras; éstas últimas migran hacia su destino final en el árbol dendrítico de la célula de Purkinje. El soma en ésta etapa ya se encuentra con su clásica figura piriforme rodeado de prolongaciones de la célula en canasta, y de glía. Durante la cuarta fase, ocurre el crecimiento del árbol dendrítico de la célula de Purkinje, así como también el establecimiento de los contactos sinápticos con las células estrelladas, células en canasta, fibras paralelas y fibras trepadoras (Altman y Anderson, 1973). En ésta fase también se forma el glomérulo cerebeloso, constituido por las fibras musgosas, las dendritas de la célula granular y el axón de la célula de Golgi ( Altman y Anderson, 1973), (lámina 2).

En resumen, los procesos involucrados en el desarrollo de la corteza cerebelosa son:

- 1) La formación de la capa granular interna, mediante la traslocación de las células granulares externas a planos



profundos, en la que intervienen las células gliales de Bergmann (Privat y Leblond, 1972).

2) La formación de la capa de células de Purkinje, tras una migración desde la zona ventricular, hacia la región cortical, hasta integrar una monocapa continua entre las capas molecular y granular interna (Altman y Anderson, 1973).

3) La formación del árbol dendrítico de las células de Purkinje (Berry y Bradley, 1976) y el establecimiento de contactos sinápticos entre las diferentes estirpes celulares con la célula de Purkinje y la formación del glomérulo cerebeloso, lo que da lugar a la integración funcional de la corteza cerebelosa (lámina 2).

Como se ha mencionado, las estructuras corticales cerebelosas en la rata están formadas por elementos neuronales y elementos gliales divididos en múltiples tipos de células. Estos elementos presentan genéricamente cuatro atributos: forma, número, posición, y patrón de conectividad de aferencias y eferencias. Estos atributos son los que se encuentran seriamente modificados en las mutantes al compararlas con cepas normales (Sidman y Green, 1970).



BIBLIOTECA CENTRAL

### 3. INTRODUCCION.-

#### 3.1 MIELINIZACION.-

La mielinización es un proceso complejo por el cual una célula determinada ( el oligodendrocito en el S. N. C. y la célula de Schwann en el sistema nervioso periférico), incrementa la superficie de su propia membrana plasmática para envolver uno o varios axones . Para que se lleve a cabo este proceso se deben cumplir las siguientes condiciones:

- 1.- EL oligodendrocito debe alcanzar un estado en el cual es capaz de producir los componentes específicos de la vaina de mielina.
- 2.- El axón debe alcanzar un estado en el cual pueda ser reconocido como una estructura mielinizable.
- 3.- La célula mielinizante debe reconocer el axón que va a ser mielinizado como su blanco específico.
- 4.- Al envolver las estructuras axonales, la célula mielinizante debe proceder de tal forma que construya la figura característica de la vaina de mielina, con la aposición de las membranas externas lo que conlleva a la formación de las líneas intraperiodo y la aposición de las internas que formarán la línea densa principal.

### 3.2 MIELINIZACION CENTRAL.-

La formación de mielina en el S. N. C. es bastante diferente a la del sistema nervioso periférico (Peters y cols., 1976). Inicialmente las células gliales primitivas se multiplican y migran entre las neuritas en desarrollo. Varias de esas células son astroblastos; que contienen filamentos y forman una malla de prolongaciones que cubre la superficie del S. N. C. (glía limitante), se encuentran también alrededor de la mayoría de los vasos sanguíneos y subdivide a grandes grupos de axones en desarrollo.

Los oligodendrocitos presentan un núcleo redondo y su citoplasma está lleno casi totalmente de retículo endoplásmico rugoso, ribosomas libres y microtubulos. El oligodendrocito primeramente forma prolongaciones que interactúan con los axones que mielinizan, de tal manera que un oligodendrocito forma un segmento de mielina alrededor de varios axones y el proceso no es sincrónico ya que esta célula puede mielinizar a los axones en diferentes tractos (Peters y cols., 1976).

Se conoce que la proteína básica de mielina ésta presente en los oligodendrocitos antes de que las vainas de mielina sean formadas y su concentración relativa en esas células se eleva y cae durante la rápida acumulación de mielina.

La glucoproteína asociada a la mielina (MAG) se

encuentra también en los oligodendrocitos y células de Schwann antes y durante la formación de mielina.

### 3.3 MUTANTES DEFICIENTES EN MIELINA.

Uno de los principales problemas en la biología del desarrollo es el entendimiento de los mecanismos reguladores involucrados en las complejas vías de diferenciación tisular. Una oportunidad interesante para la identificación de esos mecanismos consiste en el uso de especies mutantes de laboratorio, las cuales son numerosas y relativamente fáciles de procrear.

Algunas de esas mutaciones exhiben un claro defecto, más o menos restringido al proceso de mielinización, mientras que otras tienen un fenotipo complejo, el cual está asociado con alteraciones en el contenido de la mielina como resultado de un fenómeno pleiotrópico.

De tales mutantes se encuentran dos cuyas alteraciones genéticas se transmiten de manera recesiva ligada al cromosoma X y manifiestan varias características, en común, éstas son el ratón mutante " jimpy" y la rata deficiente en mielina "MD".

Jimpy: jp Cromosoma X.

Esta mutación fue descubierta por R. Philipps (1954) entre una progenie de hembras fértiles. Está caracterizada por una deficiencia severa de mielina en el S. N. C. Por el contrario el sistema nervioso periférico se encuentra normal.

Esta mutante transmite su alteración de manera recesiva ligada al cromosoma X, por lo que el ratón macho representa el homocigoto afectado. Esta mutación se vuelve aparente entre los 10 y 12 días después del nacimiento. Los animales manifiestan un temblor axial, contracciones tónicas y la muerte sobreviene entre los 20 y 30 días de edad. Por ser esta mutación ligada al sexo ha sido propagada a través de las hembras heterocigotas. La cruce entre el macho y la hembra heterocigota produce igual proporción de animales mutantes y normales ( Nave y cols., 1986 ).

Estudios a nivel molecular han demostrado que el gen de la proteína proteólípido (PLP), se encuentra alterado en el ratón mutante " jimpy" (Hudson y cols., 1987; Macklin y cols., 1987). Los RNAs específicos para la PLP son ligeramente más cortos que en el ratón normal, como resultado de una supresión interna de 74 nucleótidos (Morello y cols. 1986).

"MD".

La rata mutante deficiente en mielina "MD", presenta una alteración neurológica que se manifiesta por una deficiencia en la formación de mielina solamente en el S.N. C. Su aberración genética se transmite con carácter recesivo ligado al cromosoma X, por lo que el macho es el afectado y presenta los siguientes síntomas: temblor inicial en la cabeza entre los 12 y 15 días de desarrollo postnatal, el que se

generaliza a los pocos días, posteriormente entre los 17 y 21 días presenta contracciones tónicas, después de las cuales sobreviene la muerte entre los 28 y 30 días de edad postnatal, (Csiza y Lahunta, 1979).

Bioquímicamente las anomalías comunicadas exhiben un marcado descenso en las actividades de galactosiltransferasa y sulfotransferasa. Dichas enzimas participan de manera importante en la biosíntesis de mielina (Hof y Csiza, 1982).

Durante el desarrollo el contenido de colesterol y fosfolípidos en el cerebro de la mutante "MD" no se incrementa en la misma proporción que en los ratones normales. Además se presenta una severa reducción en el contenido de glucolípidos sobre todo de los cerebrosidios y sulfátidos.

Entre los 3 y 7 días de edad, en la médula espinal de la rata "MD" la mayoría de las células gliales son inmaduras. Los astrocitos y oligodendrocitos no difieren de los normales. De los 7 a 12 días se observan oligodendrocitos cercanos a su fase final de maduración. Estas células poseen un núcleo moderadamente electrodensó y un prominente aparato de Golgi, en general estas células son similares a los oligodendrocitos maduros pero en menor cantidad. Se distinguieron dos tipos de células gliales anormales, a) un oligodendrocito anormal que estaba presente en la médula a nivel cervical a los tres días de edad y ausente en el resto del sistema nervioso central. Entre los 30 y 40 días

los oligodendrocitos anormales se vuelven más numerosos y se presentan en el cerebro tanto en la sustancia blanca como en la gris. La morfología de estas células es la siguiente: el núcleo muestra una distribución homogénea de partículas de cromatina, el citoplasma presenta una electrodensidad intermedia, escasos microtubulos, el espacio perinuclear se observa distendido, los microtubulos son normales y los sacos del aparato de Golgi en algunas ocasiones muestran una ligera distensión. Una característica sobresaliente es la presencia de cisternas cortas y distendidas del retículo endoplásmico rugoso. Estas células anormales también presentan escasas prolongaciones, algunas de las cuales parece que envuelven a los axones, sin embargo no forman mielina.

b) células gliales que fueron consideradas como microgliocitos, con un citoplasma electrodenso y que son numerosas en los animales afectados de 10 días de edad en adelante. Estas son más comunes en la sustancia blanca que en la gris. En mutantes de 40 días o más estas células aumentan en número y se llenan de gotas lipídicas.

Los astrocitos son normales hasta el día 20 posnatal, después del cual muestran hipertrofia. Algunos astrocitos alargados contienen restos celulares y vacuolas lipídicas. Al realizar un recuento diferencial de células gliales a nivel del nervio óptico en animales afectados "MD" de 46 días de edad se pudo establecer que el 88% de las células gliales eran astrocitos, mientras que en los normales solo se encontro un 42% .

Los cuerpos celulares y dendritas de las células nerviosas de la corteza frontal de médula espinal cervical y cerebelo en la rata "MD" no difieren de sus testigo.

En las mutantes jóvenes ( menores de 15 días ) y animales normales de edades correspondientes se observaron axones degenerados electrodensos y vacuolados. Estos raramente excedían de 5  $\mu$ m en diámetro. A los 17 días estas anomalías axonales fueron limitadas a las mutantes y consistían de dilataciones axoplásmicas degeneradas que median de 8 a 11  $\mu$ m en amplitud. Estas dilataciones contenían mitocondrias, cuerpos densos, neurofilamentos, vacuolas y microtúbulos.

No se observó mielina compacta durante todo el periodo de vida de la mutante. Sin embargo, en las mutantes viejas (de 40 días en adelante) se encontraron de manera ocasional pequeños grupos de axones (2 a 5 ) revestidos de mielina, pobremente desarrollada. La interposición de prolongaciones astrocíticas entre los axones y la mielina mal formada fue común en los animales deficientes entre los 30 y 46 días posnatales. Los datos anteriormente descritos concuerdan con la hipótesis de un defecto primario en los oligodendrocitos. (Barro y cols., 1980).

Yanagisawa y cols. en 1986 realizaron un análisis sobre el contenido de las proteínas de mielina en la rata "MD" y comunicaron que la deficiencia en la proteína básica de mielina (BP) fue mayor que la de la glucoproteína asociada a la mielina (MAG) y aún mayor que la deficiencia de



nucleótido cíclico-fosfodiesterasa (CNPasa). Esto lo observaron en las ratas "MD" entre los 8 y 25 días de edad posnatal. Los valores encontrados fueron:  $14 \pm 1.7$  ng/ug de proteína en los controles y de  $0.15 \pm 0.022$  ng/ug de proteína en los animales afectados. Este hallazgo es muy similar a lo encontrado en las mutantes: " jimpy" (Yanahisawa y cols., 1986) "quaquing mice" (Inuzuka y cols., 1985), "trembler" (Inuzuka y cols. 1985) y "shaking pup" (Inuzuka y cols., 1986). La disminución drástica del contenido de BP en el cerebro, se debe probablemente al hecho de que ésta proteína se encuentra en la mielina compacta, la cual está ausente en las mutantes antes mencionadas, en cambio la MAG y CNPasa se localizan selectivamente en las membranas celulares del oligodendrocito o célula de Schwann no compactadas (Quarles, 1980).

Durante el desarrollo la síntesis de la proteína proteolípido (PLP), se retrasa bastante con respecto a la síntesis de BP ( Campagnoni y Hunkeler, 1980). En la rata MD" el nivel extremadamente bajo o la ausencia de PLP posiblemente se deba a que el oligodendrocito no completa su diferenciación (Dentinger y cols., 1985).

Otro hallazgo interesante comunicado por Willard y Riordan (1985) que apoyan los datos anteriormente descritos, es que el gen de la FLP que se encuentra en el cromosoma X, parece estar afectado directamente en varios desórdenes acompañados de una deficiencia en mielina.

Estudios realizados en la médula espinal de la rata "MD" a los 23 días de edad posnatal muestran una severa reducción de los ácidos ribonucleicos mensajeros (RNAs) que se utilizan en la síntesis de la PLP y BP. Debido a la deficiencia en la síntesis, sólo algunas fibras se mielinizan. Sin embargo, la mielina no es normal ya que no forma la línea intraperíodo, sitio en el cuál ésta proteína se encuentra localizada (Yanahisawa y cols., 1986).

A pesar de que la rata "MD" desarrolla una gran deficiencia de mielina en el S.N.C., ocasionalmente se pueden encontrar segmentos de mielina de un espesor moderado. El típico patrón laminar que consiste de líneas densas principales que se alternan con las líneas intraperíodo está presente en algunas regiones de tales segmentos. Sin embargo, los dobleces redundantes son comunes y las prolongaciones astrocíticas se encuentran frecuentemente entre la vaina de mielina y el axolema, o dentro de la vaina. En la región paranodal, las membranas de mielina ocasionalmente forman una agrupación ("palisada") de vueltas terminales contra el axolema, las bandas transversas se presentan rara vez. Se aprecian en forma frecuente uniones paranodales revertidas y la capa más externa de mielina, en lugar de encontrarse estrechamente unida, se encuentra alejada del nodo y a pesar de que sucesivas vueltas terminales alcanzan el nodo no establecen contacto con el axón (Rosenbluth, 1987).

Los estudios realizados por Connor y cols. en 1987 comunican que en el cerebelo de la rata "MD" se presenta una deficiencia del 94% de transferrina . A nivel de la corteza cerebral, la deficiencia de transferrina es del 88% . Se ha postulado ( Rosenbluth, 1985, 1988) que las anomalías neurológicas en las ratas "MD", particularmente las contracciones, se deben a un incremento en la actividad espontánea de las fibras nerviosas centrales. Tal actividad se origina posiblemente de un fenómeno efáptico de los axones y / o a una depolarización de los mismos por acumulación de potasio extracelular (Rosenbluth, 1988). En el estudio realizado por Young y cols. en 1989 encontraron alteraciones en la conducción nerviosa porque los potenciales corticales somatosensoriales presentaban una latencia mayor en los animales "MD" que en los animales normales.

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.-

Se desconoce si en la rata mutante deficiente en mielina "MD", junto con los oligodendrocitos se encuentran alteradas otras líneas de diferenciación del sistema nervioso central. El cerebelo es la estructura idónea para explorar la histogénesis del sistema nervioso central en dicha mutante, ya que éste completa su diferenciación y madurez posnatalmente.

## 5. HIFOTESIS.-

Si la mutación presente en la rata "MD" solo afectara la línea de diferenciación de los oligodendrocitos entonces las alteraciones histológicas que ocurren sólo se presentarán en la sustancia blanca del cerebelo y no ocurrirán en la corteza cerebelosa durante el desarrollo posnatal.

## 6. OBJETIVO GENERAL.-

Conocer los cambios morfométricos e histológicos que ocurren durante el desarrollo del cerebelo en la rata Wistar "MD".

### 6.1 OBJETIVOS PARTICULARES:

1.- Realizar un estudio morfométrico comparativo del cerebelo entre las mutantes y sus testigos, con el cual se pretende valorar los diámetros externos del cerebelo y el espesor de las capas que conforman la corteza cerebelosa.

2.-Conocer las variaciones histológicas de los componentes tisulares de la corteza cerebelosa y sustancia blanca del cerebelo y tallo cerebral, durante el desarrollo posnatal de la rata "MD".

## 7. MATERIAL Y METODOS:

Se utilizarón 60 ratas mutantes "MD" y 60 ratas como testigo de la cepa Wistar de las siguientes edades: 15, 17, 19, 21, 23 y 25 días, posnatales . A todas las ratas se les aplicó el siguiente tratamiento:

1.- Anestesia General con pentobarbital sódico (50mg/kg de peso).

2.- Perfusión con paraformaldehído al 4% en amortiguador de fosfatos 0.1 M, pH 7.2.

3.- Craneotomía para la obtención del cerebelo y tallo cerebral.

4.- Deshidratación. Este paso se llevó a cabo utilizando soluciones de alcohol etílico al 50, 70, 80 y 100%, en cada una de estas soluciones se colocaron las muestras por un periodo de 10 a 20 minutos. Después se sometieron a la acción del xilol para lograr su aclaramiento.

5.- Inclusión en paraplast. Las muestras se colocaron en un molde a base de cartón en el que previamente se había añadido el paraplast fundido a 55 grados C. Después de esto las muestras se introdujeron en la estufa a una temperatura de 60 grados C durante una hora.

6.- Obtención de los cortes de  $3\mu\text{m}$  de espesor con un microtomo de rotación. Los cortes se colocaron sobre laminillas de vidrio.

7. Tinción de los cortes con colorantes de anilinas (hematoxilina-eosina).

8.- Observación al microscopio de luz de las laminillas y obtención de las microfotografías.

Es pertinente mencionar que previamente a la deshidratación del cerebelo se midieron los siguientes parámetros: el diámetro horizontal, el diámetro rostrocaudal y el diámetro dorsoventral. Las medidas se hicieron con el empleo de un pie de rey (vernier). El espesor de las capas granular externa, molecular y granular interna de la corteza cerebelosa se midieron en las microfotografías amplificadas 4 veces para facilitar dicha medición. En las microfotografías se hizo una clasificación de los lóbulos cerebelosos de acuerdo a la clasificación previamente descrita por Larsell (1969). En cada uno de los lóbulos clasificados se tomaron tres zonas denominadas arbitrariamente como: la cresta, el tallo y el valle con el objetivo de tener un mínimo de error en las medidas, (lámina 3). De las mismas microfotografías se valoraron también:

La longitud de la línea de células de Purkinje y el número de éstas por zona definida. Además se hicieron las observaciones histológicas de los componentes de la corteza cerebelosa, la histología de la sustancia blanca de las folias y zonas de confluencia del cerebelo, así como de la sustancia blanca del tallo cerebral (principalmente del pedúnculo cerebeloso inferior).



## 8. RESULTADOS

Los diámetros Horizontal, Rostrocaudal y Dorsoventral del cerebelo en las ratas MD tuvieron una magnitud similar a la de los animales testigo. En la tabla I se muestran los valores encontrados en el diámetro horizontal del cerebelo tanto en las ratas testigo como en las "MD", los valores corresponden a las edades de de 19, 21, 23 y 25 días de edad posnatal. En las tablas II y III se muestran los valores de los diámetros rostrocaudal y dorsoventral encontrados en las mismas ratas. Los valores de los diámetros estudiados se grafican en las figuras A, B y C. A los 17 días se encontro una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el diámetro horizontal en la rata "MD" cuando se le comparó con sus respectivos testigos. Pero el número de animales afectados estudiados fue solamente de dos.

El espesor de la capa granular interna en la corteza cerebelosa de la rata "MD" fue significativamente menor en el lobulo 9 zona de la cresta (6.5 mm) comparado con su testigo (11.7mm) con una  $p < 0.01$  y por el contrario significativamente mayor en el lobulo 10 con una  $p < 0.05$  a la edad de 15 días (tabla IV y figura 31).

A los 23 días el espesor antes mencionado fue mayor en la rata "MD" con respecto a sus testigos en los siguientes lobulos: 4 ( $p < 0.02$ ), 6 ( $p < 0.02$ ), 7 ( $p < 0.02$ ), 8 ( $p < 0.001$ ) y 10 ( $p < 0.01$ ) (tabla IV y figura 31).

A los 25 días el espesor de la capa granular interna fue significativamente mayor en la rata "MD" en los lobulos 6 ( $p < 0.05$ ), 7 ( $p < 0.05$ ) y 8 ( $p < 0.05$ ) (tabla IV y figura 37).

El espesor de esta misma capa en la zona del valle fue significativamente mayor en la rata "MD" de 23 días con respecto a sus testigos en el lobulo 6 con una ( $p < 0.05$ ) y menor en el lobulo 10 con una ( $p < 0.02$ ), (tabla VI y figura 33).

El espesor de la capa molecular del cerebelo en la mutante "MD" de 23 días posnatales fue significativamente mayor en el lobulo 10 ( $p < 0.05$ ) con respecto a sus testigos de la misma edad, (tabla VII y figura 34). Mientras que el lobulo 4 fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ) (tabla VII y figura 34).

El espesor de la capa molecular en la corteza cerebelosa (zona del tallo), en la rata mutante "MD" de 23 días posnatales presenta una magnitud superior en los lobulos 3, 4, 5 y 6 con niveles de significancia de:  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$  y  $p < 0.02$  respectivamente; mientras que los valores encontrados en los lobulos 9 y 10 fueron significativamente menores en la mutante con respecto a sus controles con una  $p < 0.02$  y una  $p < 0.001$  respectivamente (tabla VIII y figura 35).

El espesor de la capa molecular a los 25 días posnatales en la mutante "MD" presenta una diferencia significativa en el lobulo 6  $p < 0.05$  con respecto a sus testigos (tabla VIII

y figura 38).

El espesor de la capa molecular (zona del valle) en la corteza cerebelosa fue significativamente mayor en el lobulo 4 ( $p < 0.05$ ) en la mutante de 15 días posnatales con respecto a sus testigos de la misma edad (tabla 1X).

A los 23 días el espesor de la capa antes mencionada en la zona del valle fue significativamente menor en las ratas "MD" con respecto a sus testigos en los lobulos 6 y 7 con una  $p < 0.1$  y una  $p < 0.01$  (tabla 1X y figura 36).

El espesor de la capa molecular en la rata "MD" de 25 días posnatales fue significativamente menor en el lobulo 8 (zona del valle), con una  $p < 0.05$  (tabla 1X y figura 39).

En el cerebelo de las ratas "MD" de 17, 19 y 21 días posnatales, el espesor de la capa granular externa en los lóbulos posteriores 6, 7, 8, 9 y 10 es mayor (más de dos veces) que el espesor de la misma capa en los animales control. (tabla X). La capa granular externa desaparece en las ratas normales al día 23, no así, en los animales "MD" que aún presentan un espesor de  $7.2 \mu\text{m}$  a la misma edad (figura 9).

Las características histológicas del cerebelo y tallo cerebral de las ratas "MD" de 17, 19, 21, 23 y 25 días posnatales y sus respectivos testigos se muestran en las figuras de 1 a 30. Las figuras 1, 3, 5, 7, y 9 corresponden a microfotografías de los animales normales de

las siguientes edades: 17, 19, 21, 23 y 25 día. Si se sigue una secuencia de las figuras antes mencionadas se observa que el espesor de la capa granular externa de la corteza cerebelosa se va reduciendo hasta desaparecer completamente en el día 23. Las figuras 2, 4, 6, 8 y 10 muestran las microfotografías de los animales "MD" de las edades de 17, 19, 21, 23 y 25 días, respectivamente. En la figura 8, el espesor de la capa granular externa en las ratas "MD" es de 7.2  $\mu$ m, mientras que en las ratas normales esta capa ha desaparecido completamente (figura 7). Otro hallazgo relevante es que las ratas "MD" de 25 días de edad posnatal, aún presentan un estrato de 1 a 2 células granulares (figura 10).

Las figuras 11 a 20 muestran la morfología de la sustancia blanca cerebelosa que presentan las ratas "MD" y sus testigos en un periodo que comprende de 17 a 25 días posnatales. Las figuras 11, 13, 15, 17, y 19 muestran la sustancia blanca cerebelosa de los animales normales de 17, 19, 21, 23 y 25 días respectivamente. Note que a cualquiera de las edades estudiadas los oligodendrocitos se agrupan de 3 a 10 y se alinean en hileras. También note que los fascículos fibrosos se agrupan tanto en dirección longitudinal como en dirección transversal. Este arreglo de los fascículos fibrosos es fundamental para el patron histológico que forman los oligodendrocitos. Las microfotografías de las figuras 12, 14, 16, 18 y 20 muestran la morfología de la sustancia blanca cerebelosa de las ratas "MD" a las edades de 17, 19,

21, 23 y 25 días respectivamente. En todas las microfotografías es muy notable que los haces fibrosos se encuentran pobremente asociados, su arreglo es mixto y su distribución se encuentra alterada. A través de las microfotografías 12, 14, 16, 18 y 20 se observa como disminuye el número de los oligodendrocitos hasta desaparecer casi totalmente por el día 25 (figura 20). Los astrocitos se muestran hipertroficados a partir del día 20 (figuras 16, 18 y 20 ).

La morfología del bulbo raquídeo en ratas normales y los cambios histológicos de esta estructura del sistema nervioso central en las ratas "MD y sus testigos de 17 , 19, 21,, 23, y 25 días se muestran en las microfotografías de las figuras 21 a 30. Las figuras : 21, 23, 25, 27 y 29 corresponden a los animales normales de 17, 19, 21, 23 y 25 días respectivamente. A estas edades los fascículos fibrosos de sustancia blanca de tallo en el pedúnculo cerebeloso inferior, se agrupan y arreglan longitudinalmente. Los oligodendrocitos se organizan en grupos de 3 a 10 formando cadenas. Notese en las microfotografías cómo el citoplasma de los astrocitos es más pálido que el de los oligodendrocitos y no se agrupan como estos últimos. Las figuras: 22, 24, 26, 28 y 30 muestran la histología del bulbo raquídeo de los animales "MD". Como puede observarse en estas microfotografías los fascículos fibrosos están disociados y se arreglan en forma mixta. Los oligodendrocitos desde los 17 días se vieron alterados de tal forma que ya no

establecieron su ordenamiento lineal y su número se vio severamente reducido conforme se avanzó en edad, hasta desaparecer casi totalmente por el día 25 ( figuras 22, 24, 26, 28 y 30).

La longitud de la línea de células de Purkinje a los 15 días fue de  $78.9 \pm 14.2$  cm. en los animales testigo y de  $89 \pm 5.1$  en los animales "MD". A los 25 días se incremento a  $127 \pm 0.87$  cm. en los testigos y  $124 \pm 3.32$  en los animales "MD". A ninguna de las edades estudiadas se encontraron diferencias significativas (tabla 11). El número de células de Purkinje por cm. a los 15 días fue de  $78.9 \pm 14.2$  en los animales normales y  $89 \pm 3.6$  en las ratas "MD". El número de estas células se incrementó tanto en los animales normales como en los animales "MD", conforme se avanzó en la edad. A los 25 días en las ratas normales se observaron  $127 \pm 4.3$  mientras que en las ratas testigo  $124.4 \pm 3.32$  células por cm. En todas las edades estudiadas el número de células de Purkinje por cm. fueron similares (tabla 11).

En todas las edades estudiadas en la rata "MD" las células de Purkinje se apreciaron desfasadas con respecto a su plano de ubicación. Algunas se encontraron en el interior de la capa granular interna y otras en el interior de la capa molecular de la corteza cerebelosa, a diferencia de las ratas normales en las que estas células se mostraron completamente alineadas para formar una monocapa entre la capa molecular y la capa granular interna (figuras 40 a 47).

## 9.- DISCUSION

Durante el desarrollo del Sistema Nervioso se presenta un fenómeno fundamental la migración celular. Las células granulares que conforman el estrato más superficial en la corteza cerebelosa participan en este fenómeno ya que se trasladan hacia la capa granular interna. En este estudio realizado en ratas "MD" encontramos un retardo en la migración de las células granulares. Esta deficiencia se debe probablemente a una alteración en la glía de Bergmann. Es ya conocido por los estudios de Rakic y Sidman (1973), que la migración de estas células es guiada por las prolongaciones de la glía radial de Bergmann. Estos autores usaron la mutante weaver y nosotros la "MD" y aunque existen similitudes en los resultados es importante mencionar que en la mutante weaver existe una reducción en la masa del cerebelo debido a la pérdida de casi todas las células granulares. En la rata "MD" nosotros no observamos alteraciones significativas en los diámetros externos del cerebelo. Los estudios de Sotelo y Changeaux 1974, también realizados en la mutante "weaver" muestran que las células de Bergmann presentan prolongaciones cortas y gruesas. En este estudio los autores observaron que bajo estas condiciones un pequeño número de células granulares logran migrar, pero finalmente degeneran y mueren. En el presente estudio no analizamos sistemáticamente la glía de Bergmann. Es de

nuestro interés realizar estos estudios en un futuro próximo, para poder comparar si las células de la glia radial de Bergmann presentan las mismas características que las comunicadas por Sotelo y Changeaux en 1974. Sin embargo es pertinente mencionar que las células granulares sobreviven en su destino final.

Una posible alteración que ocasiona el retardo en las células granulares, es que dichas células se muestran susceptibles a transformaciones oncogénicas propiciando la formación de tumores cerebelosos (meduloblastomas) como los reportados por Kadin y cols. en 1970 en las células granulares del cerebelo en humanos.

El aumento de espesor de los lobulos 6 al 10 en la capa molecular y granular interna de la rata "MD", posiblemente se debe a que el arreglo de las células ocupa un mayor volumen por un inadecuado empaquetamiento.

La longitud y número de células de Purkinje se encuentran en una proporción muy semejante en los animales "MD" y los normales. Sin embargo fue notorio que las células de Purkinje se muestran desfasadas de su plano de ubicación en las ratas "MD" independientemente de la edad estudiada, esto puede ocurrir por una alteración en la migración de las células de Purkinje en el cerebelo de la mutante "MD", para esclarecer este punto se requeriría estudiar en forma precisa la migración de las células de Purkinje. Este punto de vista queda abierto a proximas investigaciones.

En este trabajo también observamos hipertrofia e



hiperplasia de los astrocitos en la sustancia blanca del cerebelo y en el tallo cerebral. Esto pudiera explicarse como un fenómeno secundario de tipo reactivo o compensatorio a la desmielinización en la rata "MD" (Dentinger y cols., 1985).

Nosotros analizamos el tallo cerebral lo que nos permitió evaluar una estructura del sistema nervioso central cuyo desarrollo se completa en la etapa embrionaria a diferencia de lo que ocurre con el cerebelo. La desorganización que muestran los fascículos fibrosos de sustancia blanca en el pedúnculo cerebeloso inferior y la reducción en número de los oligodendrocitos conforme la mutante se desarrolla parecen ser consecuencia de la inmadurez de los oligodendrocitos interfasciculares que no mielinizan adecuadamente y mueren finalmente. Dicha alteración pudiera ser secundaria a la aberración genética que sufre la rata "MD" en la línea de diferenciación de los oligodendrocitos.

La mutante "MD" ha sido propuesta como modelo de leucodistrofia denominada de Pelizaeus-Merzbacher y también de la leucodistrofia sudanofílica (Csiza y Lahunta, 1979). Estas alteraciones se transmiten en los humanos de manera recesiva ligada al cromosoma X y se manifiestan como una deficiencia en la formación de mielina central. De tal forma que el conocimiento de los cambios histogenéticos que ésta mutante presenta durante su desarrollo podrían contribuir de manera importante en el discernimiento de tal aberración y sus implicaciones en el ser humano.

## 10.- CONCLUSIONES:

1.- El cerebelo de la mutante "MD" es normal al análisis anatómico macroscópico.

2.- La rata mutante "MD" presenta un retardo en la migración de las células granulares de la corteza cerebelosa. Este fenómeno apoya la hipótesis del presente estudio, en que pudiera haber alteraciones en otras líneas celulares además de la de los oligodendrocitos.

3.- Las alteraciones histológicas presentes en la sustancia blanca del cerebelo y tallo cerebral son secundarias a la desmielinización del sistema nervioso central en la mutante "MD".

## 11.- BIBLIOGRAFIA

Altman, J., y Anderson, W.J. (1973). Experimental reorganization of the cerebellar cortex. Regeneration of the external germinal layer and granular cell ectopia. *J. Comp. Neurol.* 149: 153-80.

Barron, K.D., Dentinger, M.P. y Csiza, C.K. (1980). Ultrastructural observations on myelin deficiency (md). A dysmyelinating neurologic mutant in the Wistar rat. In *Neurological Mutations Affecting Myelination* (edited by Baumann, N.) 99-106. Amsterdam, Elsevier.

Barron. K. D. , Dentinger, M.P. y Csiza. C. K. (1982). Axonal abnormalities in the central nervous system of a dysmyelinating rat mutant. *Ann. Neurol.* 12.

Berry, M. y Bradley, P. (1976). The growth of the dendritic trees of the purkinje cells in the cerebellum of the rat. *Brain res.* 112: 1-35.

Bignami, A., and Dahl, D. (1974a) The development of Bergmann glia in mutant mice with cerebellar malformation: Reeler, staggerer and weaver. Immunofluorescence study with antibody to the glial fibrillary acidic protein. *J. Comp. Neurol.* 155: 219-230.

Campagnoni A.T. y Hunkeler M. (1980). Synthesis of the

proteolipid protein in the developing mouse brain . J. Neurobiol. 11: 3555-64.

Caley, D., y Maxwell, D.S., (1968), An electron microscopic study of the neuroglia during postnatal development of the rat cerebellum, J. Comp. Neurol. 133:45-70.

Connor, J.R., Phillips, T. M., Lakshman, M. R., Barron, K.D., Fine, E.R. y Csiza, C.K., (1987). Regional variation in the levels of transferrin in the CNS of normal and myelin deficient rats J. Neurochem. 49 (5):1523-9.

Cowan, M. W. (1979). Desarrollo del Cerebro. Investigación y Ciencia.38:73-85.

Csiza C. K. y de Lahunta, A. (1979). Myelin deficiency (md) in the Wistar rat. Am. J. Pathol. 95: 215-19.

Csiza, C. K. (1982). Lipid class analysis of the central nervous system of myelin deficient Wistar rats. J. Lipid Res.23:720-25.

Del Cerro, M., y Schwars, J., (1976), prenatal development of Bergmann glial fibers in rodent cerebellum. J. Neurocytol 5: 669-676.

Dentinger M.P., Barron K. D., y Csiza C. K. (1982). Ultrastructure of the central nervous system in a myelin deficient rat.J. Neurocytol. 11, 671-91.

Dentinger M.P. Barron K.D. y Csiza C. K. (1985). Glial and axonal development in optic nerve of the myelin deficient rat. Brain. Res, 344, 255-56.

Duncan, I. D., Hammang, J.P., y Trapp, E.D. (1987).

Abnormal compact myelin in the myelin-deficient rat: Absence of proteolipid protein correlates with a defect in the intraperiod line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84: 6287-6291.

Fugita, S., (1963). The matrix cell and cytogenesis in the developing central nervous system, *J. Comp. Neurol.* 120:37-42.

Fugita, H., y Fugita, S., (1964). Electron microscopic studies on the differentiation of the ependymal cells and the glioblast in the spinal cord of domestic fowl, *Zellforsch* 64:262-272.

Gardinier, M.V., Macklin, W.B., Diniak A.J., y Deininger P.L., (1986). Characterization of myelin proteolip mRNAs in normal and jimpy mice. *Moll Cell. Biol.* 6:3755-3762.

Hinds, J. W., y Ruffett, T. L., (1974). Cell proliferation in the neural tube; an electron microscopic and Gogi analysis in the mouse cerebral vesicle. *Z. Zellforsch* 115: 226-64.

Hof, L. y Csiza, C. K. (1982). Developmental changes in glucolipid synthesizing enzymes in the brain of a myelin-deficient Wistar rat. *J. Neurochem.* 39:1434-1439.

Hudson, L.D., Berndt, J.A., Puckett, C., Kozak, C.A. Lazzarini R.A. (1987). Aberrant splicing of proteolipid protein mRNA in the dysmyelinating jimpy mutant mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84, 1454-58.

Imamoto, K., Paterson, J., y Leblond, C., (1978). Radioautographic investigation of gliogenesis in the corpus callosum of young rats. I. Sequential changes in oligodendrocytes, J. Comp. Neurol. 180:115-138.

Inuzuka, T., Quarles, R. H., Heath, J. y Trapp, B. D. (1985). Expression of the protein proteolipid gene in normal and dysmyelinating mouse mutants. (Abstr). J. Cell Biol. 101, 434a.

Inuzuka T., Duncan, I. D. y Quarles R.H. (1986). Myelin proteins in the C.N.S. of shaking pups. Dev. Brain res. 28;263-68.

Kadin , M.E., Rubinstein, L.J. y Nelson, J.S. (1970). Neonatal cerebellar medulloblastoma originating from the fetal external granular layer. J. Neuropath. Exp. Neurol. 29: 583-600.

Kahn, S., Tansey, F.A. y Cammer, W. (1986): Biochemical and immunocytochemical evidence for a deficiency of normal interfascicular oligodendroglia in the CNS of the dysmyelinating mutant (md) rat. J. Neurochem. 47: 1061-1065.

Katsuhiko, Y., Duncan , I.D. Hammang, J.P y Quarles , R.H.. (1982). Myelin deficient rat. Analysis of myelin Proteins. J. of Neurochem. 47,1901-1907.

Kumar, S., Gordon, M.A., Espinosa de los Monteros, A. y de Vellis J. (1989). Developmental expression of neural cell type specific mRNA markers in the myelin-deficient rat brain:

Inhibition of oligodendrocyte differentiation. *J. Neurosci. Res.* 21: 268-274.

Larramendi, L.M., y Victor, T. (1966). Soma-dendritic gradient of espine resorption in the Purkinje cell in the cerebellum of the mouse during postnatal development. An electron microscopic study. *Anat. Rec.* 154:373-80.

Larsell, O., (1935). Development and morphology of cerebellum in opossum; early development. *J. Comp. Neurol.* 63:65-94.

Levitt, R., Cooper, M.L., y Rakic, P., (1981). Coexistencia of neuronal and glial precursor cell in the cerebral ventricular zone of the fetal monkey: An ultrastructural immunoperoxidase analysis, *J. Neurosci.* 1:27-39.

Macklin, W.V., Gardinier, M. V., King, K.D., y Kampf K. (1987). An AG-GG transition at a splice site in the myelin proteolipid protein gene in jimpy mice results in the removal of an exon. *FEBS Lett.* 223:417-421.

Meier, C. y Bischoff, A. (1974). Dysmyelination in jimpy mouse. *J. of Neuropathol. and Exp. Neurol.* 33: 343-53.

Morello, D., Dautigny, A., Pham-Dinh, D., y Jolles, F. (1986). Myelin proteolipid protein (PLP-DM20) transcripts are deleted in jimpy mutant mice. *EMBO. J.* 5: 3489-3493.

Nave, K. A., Lai, C., Bloom, F.E. y Milner, R. J. (1986). Jimpy mutant mouse: A 74-base deletion in the mRNA for myelin proteolipid protein and evidence for a primary defect in

RNA splicing. Proc. Acad. Nat. Sci. USA. 83: 9264-8.

Peters, A., Palay, S.L. y Webster, H. de F. (1976). The fine structure of the nervous system: The neurons and supporting cells, W.B. Saunders Company. Philadelphia-London-Toronto, pp. 1-406.

Philips, R.J.S., (1954). Jimpy: a New totally sex linked gene in the house mouse. Z. Indukt. Abstammungs Vererbungsl. 86, 322.

Philips, D., (1973). An electron microscopic study of microglia and macroglia in the lateral funiculus of the developing spinal cord in the fetal monkey. Z. Zellforsch 140:145-67.

Privat, A., y Leblond, C. P., (1972). The subependymal layer and neighboring region in the brain of the young rat, J. Comp. Neurol. 146:277-301.

Rakic, P., y Sidman, R.L. (1973 a). Weaver mutant mouse cerebellum: Defective neuronal migration secondary to abnormality of Bergmann glia. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 70:240-244.

Rakic, P., y Sidman, R. L. (1973 b). Sequence of developmental abnormalities leading to granule cell deficit in cerebellar cortex of weaver mutant mice. J. Comp. Neurol. 152: 103-32.



Rezai, Z., y Yoon , C. H. (1972). Abnormal grate of granule cell migration in the cerebellum of weaver mutant mice. Dev. Biol. 29: 17-26.

Rosenbluth, J. (1985). Intramembranous particle patches in myelin deficient rat axons. Neurosci. Lett. 62:19-24.

Rosenbluth, J. (1987). Abnormal axoglial junctions in the myelin-deficient rat mutant. J. of. Neurocytol. 16: 497-509.

Rosenbluth, J. (1988). Spinal Cord injury or spinal anesthesia eliminates seizures in myelin-deficient rats. Neurosci.Lett. 84:68-72.

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

Skoff, R., Price, D., y Stocks, A., (1976 a) Electro microscopic autorradiographic studies of gliogenesis in rat optic nerve. I. Cell proliferation. J. Comp. Neurol. 169: 291-312.

Skoff, R., Price, D., y Stocks, A., (1976 b). Electron microscopic autorradiographis studies of gliogenesis in rat optic nerve. II. Time of origen. J. Comp. Neurol. 179: 313-333.

Skoff, R., y Price, D., (1980). Neuroglia: A reevaluation of their origin and development. Pathol. Res. Fract. 168: 279-300.

Smart, I., y Leblond, C. P., (1961). Evidence for division and transformation of neuroglial cells in the mouse brain, as derived from autoradiography after injection of thymidine-H, J. Comp. Neurol. 116:349-67.

Schmechel, D., y Rakic, P., (1979). A Golgi study of radial glial cells in developing monkey telencephalon: Morphogenesis and transformation into astrocytes. Anat. Embryol. 156: 115-52.

Sotelo, C. y Changeux, J. P. (1974). Bergman fibers and granular cell migration in the cerebellum of the homozygous weaver mutant mouse. Brain Res. 77:484-91.

Vaughn, J. E., (1969). An electron microscopic analysis of gliogenesis in rat optic nerve . Z. Zellforsch. 94: 292-324.

Vaughn, J. E., (1971). The morphology in development of neuroglial cells , in: Cellular Aspects of Neural Growth and differentiation. pp. 103-134. University of California Press, Berkeley , Ca.

Yanahisawa, K., Duncan, I. D. Hammang, J. P. y Quarles, R., (1986). Myelin deficient rat. Analysis of myelin proteins. J. Neurochem. 47: 1901-1907.

Young, W., Rosenbluth, J. C., Kaoru, W. S. y Kim, H. (1989). Extracellular potassium activity and axonal conduction in spinal cord of the myelin-deficient mutant rat. Exp. Neurol. 106: 41-51.

12.- TABLAS Y FIGURAS.-

TABLA 1.-

DIAMETRO HORIZONTAL:

Edad	19	21	23	25
Controles	9.8 ± 1.4	8 ± .9	9.5 ± .8	9.6 ± 1.1
Afectados	7.73 ± .4	8.2 ± 0	8.62 ± .6	8.9 ± 0

Nota: Los valores corresponden a las medias estadísticas + su desviación estandar en mm.

TABLA 11.-

DIAMETRO DORSOVENTRAL:

Edad	19	21	23	25
Controles	4.13 ± 0	4.19 ± .24	4.23 ± .21	4.39 ± .45
Afectados	3.98 ± .1	4.6 ± 0	4.48 ± .46	4.65 ± .05

Nota: Los valores corresponden a las medias + su desviación estandar en mm.



BIBLIOTECA CENTRAL

TABLA 111.-

DIAMETRO ROSTROCAUDAL:

Edad	19	21	23	25
Controles	5 ± 0	5.4 ± .33	5.5 ± 1	5.84 ± .16
Afectados	4.66 ± .59	5.26 ± 0	5.62 ± .42	5.72 ± 0.2

Nota: Los valores corresponden a las medias + su desviación estandar en mm.

TABLA IV

ESPESOR DE LA CAPA GRANULAR INTERNA.-

CRESTA.-

EDAD		3	4	5	6	7	8	9	10
15	MD	6	6.5	7.5	6	8	7.5	6.5	14
15	C	8.4 ± 3.2	8.4 ± 1	8.18 ± 3	6.9 ± 2	6.5 ± 1.2	7 ± 2.2	11.7 ± 2	9.9 ± 2
19	MD	9	5.5 ± 2	9 ± 1.4	7.7 ± 3	8 ± 2.8	8 ± 2.8	10 ± 2.8	8 ± 1.4
19	C	9	7	10	8	7	10	12	9
21	MD								
21	C	6.4 ± 1	6.1 ± .2	6.9 ± .2	7.5 ± 2	10 ± 3.1	7.1 ± .5	7.7 ± 1	14 ± 2.0
23	MD	12 ± 3.8	11.6 ± 3	8.3 ± 2	10.9 ± 3	11.8 ± 5	9.8 ± 1	8.4 ± 1	17.1 ± 1
23	C	11	7	9	6	6	3	9	12
25	MD	10	6	6	8.5	9	8.5	10	---
25	C	12	8	10	3	3	2	8	8

Pie de nota: Los valores corresponden a la media + su desviación estandar. Las unidades estén en mm.

TABLA V.-

ESPESOR DE LA CAPA GRANULAR INTERNA.

EDAD		3	4	5	TALLO.-	7	8	9	10
15	MD	4.25	3.75	4.75	5.25	4	5.5	6.25	6.75
15	C	3.9 ± 2	3.11 ± 1	3.9 ± 1	4.63 ± 1	4 ± 1.7	4.9 ± 2	6 ± 2.1	6.6 ± 3
19	MD	2.75 ± 1	3.2 ± 3	3.7 ± .3	4.2 ± 1	4.25 ± .3	5	6.2 ± .3	5.7 ± 1
19	C	3.5	3.5	4	5.5	4.5	5	6.5	7
21	MD								
21	C	4.7 ± 2	3.7 ± .4	4.1 ± .6	5 ± .2	4 ± .7	3 ± .54	4.5 ± .5	5.7 ± 2
23	MD	8 ± 2	6 ± 3	5.5 ± .7	6.4 ± 1	4 ± .76	6.3 ± 1	8.4 ± 1.8	6.1 ± 1
23	C	6	5	6	7	7	5.5	6	9
25	MD	4	5	5	5	4	4.5	5	-----
25	C	2	2.5	4	4.5	4.5	3	3.5	5

Pie de Figura: Los valores corresponden a la media + su desviación estandar.  
Las unidades están en mm.

TABLA VI

ESPEJOR DE LA CAPA GRANULAR INTERNA

EDAD		VALLE.-							
		3	4	5	6	7	8	9	10
15	MD	3	2.5	2	2	2	2.5	2	3.25
15	C	2.3 ± 1	2 ± .5	2.5 ± 1	2.6 ± 1	2.66 ± 1	3.1 ± .3	2.6 ± .6	2.7 ± .7
19	MD	2	3	2.5 ± .7	2.7 ± 1	2.5 ± .7	3 ± 1.4	2.5 ± 2	2.5
19	C	2	3	3	3.5	3	4	4	----
21	MD	1.8 ± .4	2.2 ± .4	2	2.9 ± 1.5	2.9 ± 1	2.9 ± .2	2.1 ± .4	3.2 ± 1.1
21	MD								
23	MD	3.5 ± 1	3 ± 1.1	2.9 ± .8	5.2 ± 1	4.5 ± .8	3.8 ± 1	2.9 ± .6	2.1 ± .7
23	C	2	2	3	3	4	4	4	3
25	MD	3	3	3	4	5	3.5	4	-----
25	C	2	1	1	4	4	3	2.5	2.5

Pie de nota; Los valores corresponden a la media + su desviación estandar. Las unidades están en mm.

TÁBLA VII

ESPEJOR DE LA CAPA MOLECULAR.-

CRESTA.-

EDAD		3	4	5	6	7	8	9	10
15	MD	2.5	2.5	2.5	2.25	3.75	3.25	3	3.75
15	C	2.94 ±.8	2.9 ± 1	2.6 ± 1.1	2.4 ±.5	2.7 ±.58	2.3 ±.7	2.2 ±1.1	3.1 ±1
19	MD	3.5 ±.7	2.7 ±1	2.2 ±.3	2.2 ±.3	2.5 ±.7	2.5 ±.7	2.7 ±.3	3.5 ±.7
19	C	3 ± 1	3.7 ±.2	2.2 ±.2	2.2 ±.2	2.5 ±.5	3	3.2 ±.2	4
21	MD								
21	C	3.2 ±.4	2.9 ±.8	2.9 ±.37	2.8 ±.7	4.7 ±1.6	3.8 ±.2	4.5 ±2.2	5.8 ± 1
23	MD	3.5 ± 1	3.5 ±.9	4.1 ±.9	3.6 ±.5	3.7 ±1.4	4.4 ±.8	3.9 ±.2	6.8 ±1.6
23	C	2	5.5	4	4	4	3	2.5	4
25	MD	3	2	3	4	4	3	8	-----
25	C	4	3.5	3	-----	-----	-----	5	4

Pie de figura: Los valores corresponden a la media + su desviación estandar.

Las unidades están en mm.



TABLA VIII

ESPESOR DE LA CAPA MOLECULAR.-

TALLO.-

EDAD		3	4	5	6	7	8	9	10
15	MD	4	3.75	4.25	4.5	5.25	4.5	5	3.75
15	C	3 ± .5	3.7 ± .6	3.7 ± .8	4.2 ± 1.0	3.7 ± .8	3.8 ± .8	4.2 ± 1	3.7 ± .8
19	MD	2.5	3.5	4	5	4.75	6.75	5.75	3.75
19	C	3.7 ± .2	10 ± 1	5.5 ± 1	6.5 ±	5	5 ± 1	5.7 ± .7	3
21	MD								
21	C	4.7 ± .5	5.3 ± 1.0	6.5 ± .77	6.8 ± 1.5	7.1 ± 1.5	6 ± .70	6 ± .89	4.2 ± .24
23	MD	6 ± .95	6.3 ± .7	6.6 ± .3	6.6 ± .7	5.2 ± .8	6. ± .8	6.9 ± .6	5.1 ± .3
23	C	4	5.5	4.5	4.5	5	6.5	9	7.5
25	MD	4	6	6	11	5	5.5	5	-----
25	C	4.5	3	5	5.5	5.5	4	5.5	5

PIE DE FIGURA: Los valores corresponden a la media + su desviación estandar.

Las unidades están en mm.

TABLA IX.

ESPEJOR DE LA CAPA MOLECULAR.-

VALLE.-

EDAD		3	4	5	6	7	8	9	10
15	MD	5	5.5	4.5	4.25	4	4	5.5	3.75
15	C	3.6±.9	3.7±.4	3.94±.9	3.8±.9	4.3±1.	4.3±1.8	3.7±1.2	3.9±1.2
19	MD	5.5±.7	4±1.4	4±1.4	4.25±1	5	4.5±.7	4.5±.7	4
19	C	4.5±.5	4.5±.5	4±1	5	7±2	5	5	4
21	MD								
21	C	7.8±.7	7.4±.9	6.3±.74	6.3±.7	7.8±2	7.6±2.4	7.8±1	4.5±1.3
23	MD	7.8±2	7.5±1.8	8.9±.74	10.1±5	11.5±3	9.1±1.	8.4±2	5.5±1.
23	C	6	7	13	13	17	10	6	-5
25	MD	10	6	6	5.5	9	5	6	-----
25	C	6	6	9	6	6	10	7	7

PIE DE FIGURA: Los valores corresponden a la media + su desviación estandar.

Las unidades están en mm.

TABLA X.-

ESPESOR DE LA GAPA GRANULAR EXTERNA

EDAD	$\mu\text{m}$	
	NORMALES	AFECTADOS
17	21.6 $\pm$ 2.5	45 $\pm$ 3.2
19	10.8 $\pm$ 2.8	25.2 $\pm$ 2.9
21	5.4 $\pm$ 1.5	10.8 $\pm$ 0.7
23	-----	7.2 $\pm$ 0.5

Los valores corresponden a la media más su desviación estandar en  $\mu\text{m}$ .

TABLA XI.-

LONGITUD DE LA LINEA DE CELULAS DE PURKINJE.-

EDAD	NORMALES	AFECTADOS
15	78.9 $\pm$ 14	89
17	112.0 $\pm$ 0.5	105.75 $\pm$ 7.25
21	96.6 $\pm$ 9.6	113.0 $\pm$ 0.4
23	107.5 $\pm$ 2.2	109.0 $\pm$ 0.5
25	127.0 $\pm$ 0.3	124.4 $\pm$ 3.32

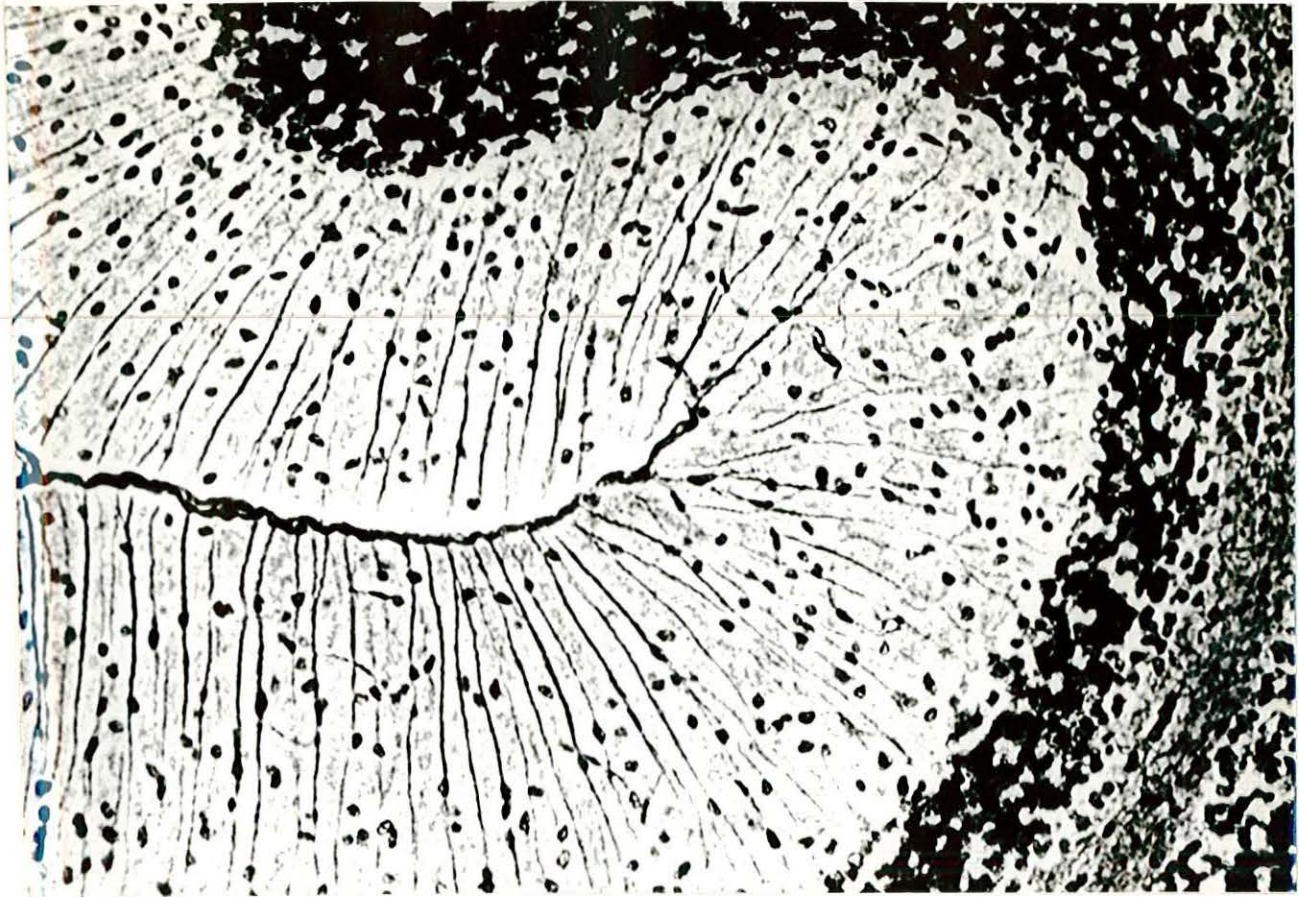
Los datos corresponden a los valores promedio más su desviación standar en centímetros.

Tabla XII.-

NUMERO DE CELULAS DE PURKINJE/CM

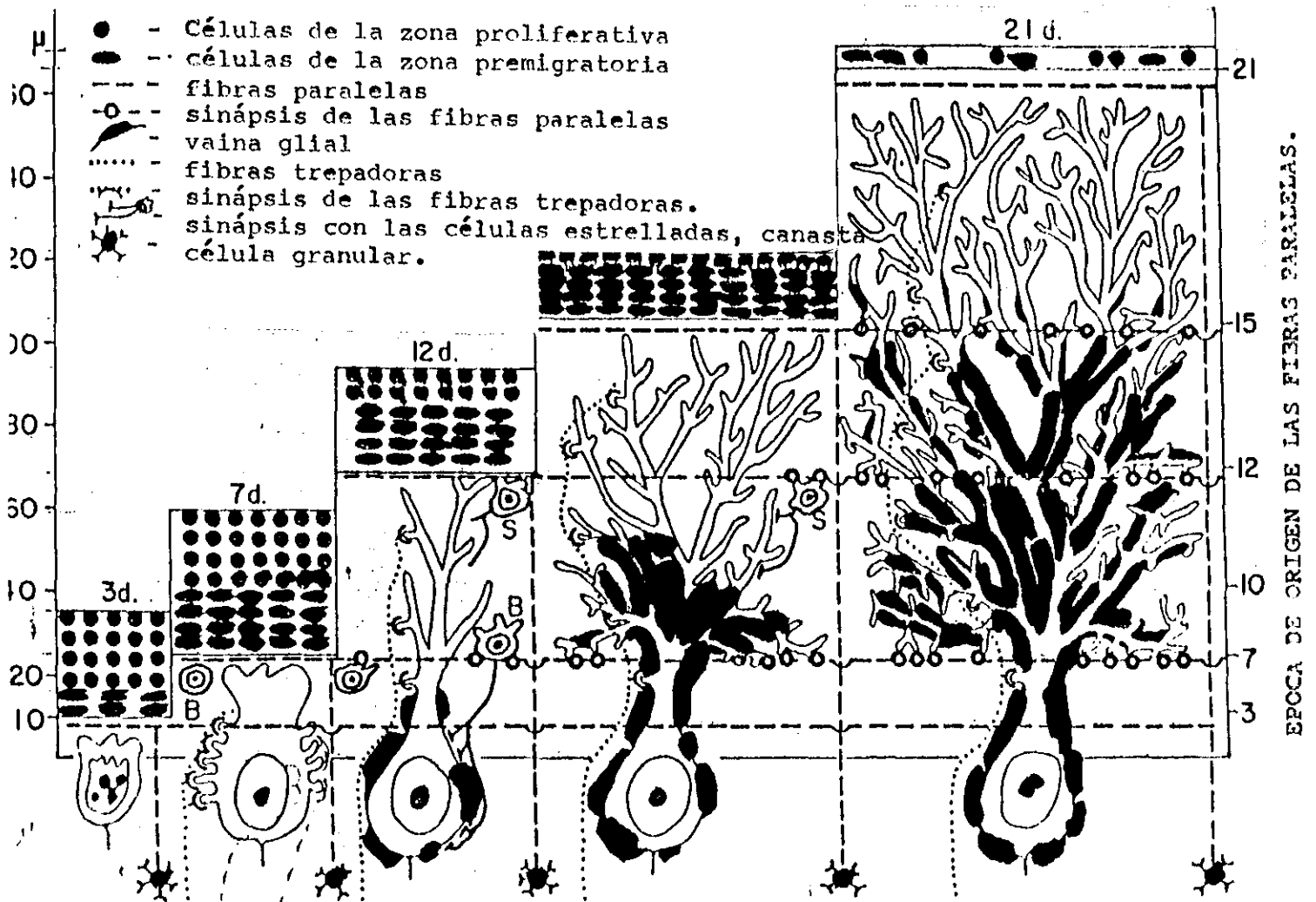
Edad	Normales	Afectados
15	20.31 $\pm$ 4.3	25.4 $\pm$ .2
19	17.20 $\pm$ 3.27	20.0 $\pm$ 3.35
21	22.48 $\pm$ 2.89	20.84 $\pm$ .56
23	19.55 $\pm$ .85	18.83 $\pm$ 1.18
25	15.38 $\pm$ .78	15.5 $\pm$ 0.5

Nota: Los valores corresponden a las medias + su desviación estandar.



## LAMINA 1.-

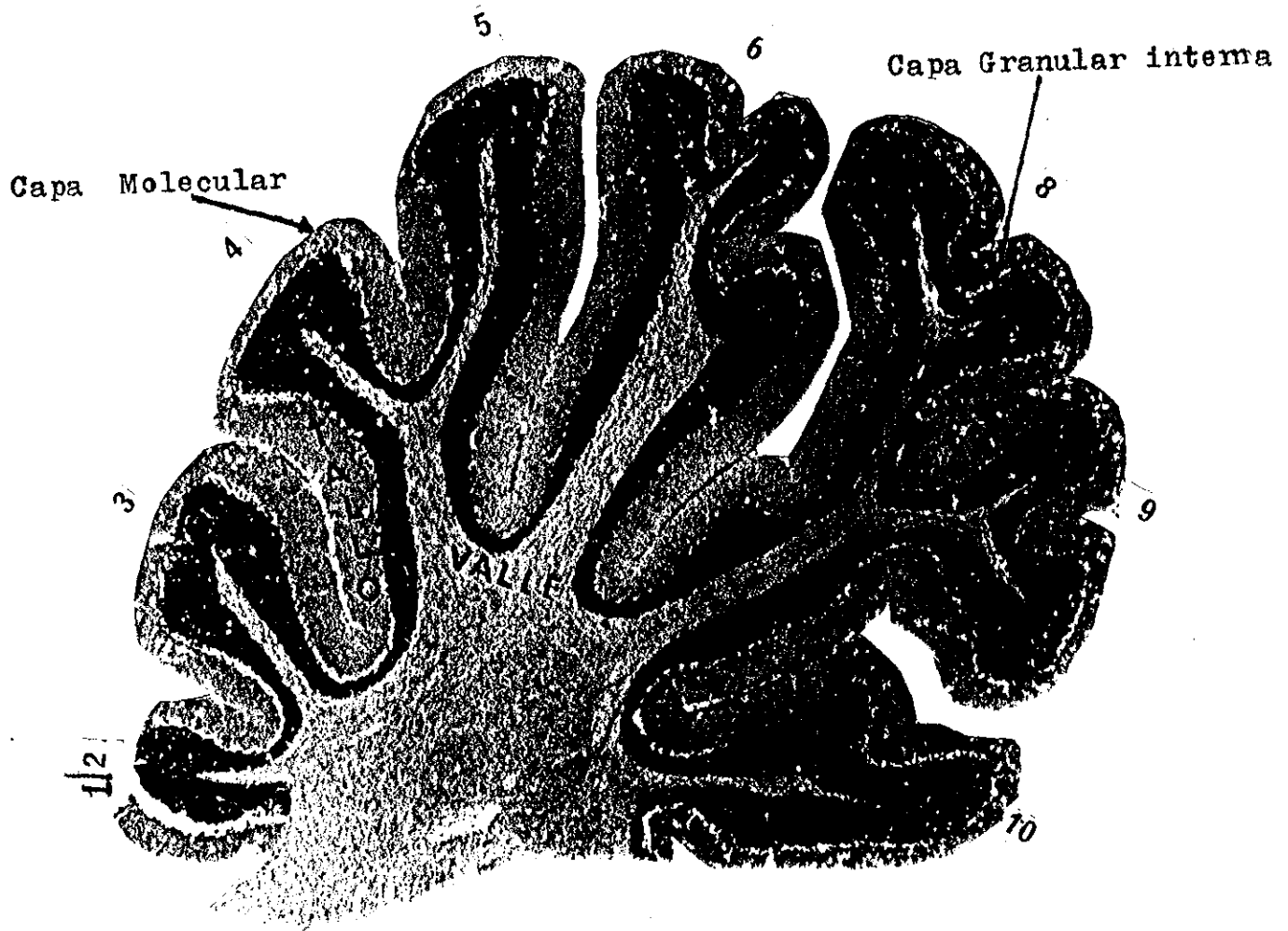
En esta lámina se muestra un corte a nivel de corteza cerebelosa de rata Wistar normal, en el que se aprecian las prolongaciones de la glia de Bergmann que se extienden desde la monocapa de células de Purkinje hasta la superficie de la glia limitante.



LAMINA 2.-

En este esquema propuesto por Altman en 1972, se ilustran los principales eventos que ocurren durante el desarrollo de la corteza cerebelosa en roedores. Estos eventos se describen en antecedentes.

LAMINA 3.- En esta microfotografía se muestra un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata Wistar - normal de 21 días posnatales. Los números presentes en cada lobulo están de acuerdo a la clasificación previamente descrita por Larsell. En esta también se aprecian la capa molecular, la capa de células de Purkinje y la capa granular interna.



Lamina 3.



Abreviaturas empleadas en los pies de figura.-

As = Astrocitos

DGR = Capa Granular Externa.

CGI = Capa Granular Interna.

CGR = Células Gliales Reactivas.

CM = Capa Molecular.

cm = Células migratorias.

Ff = Fascículos fibrosos

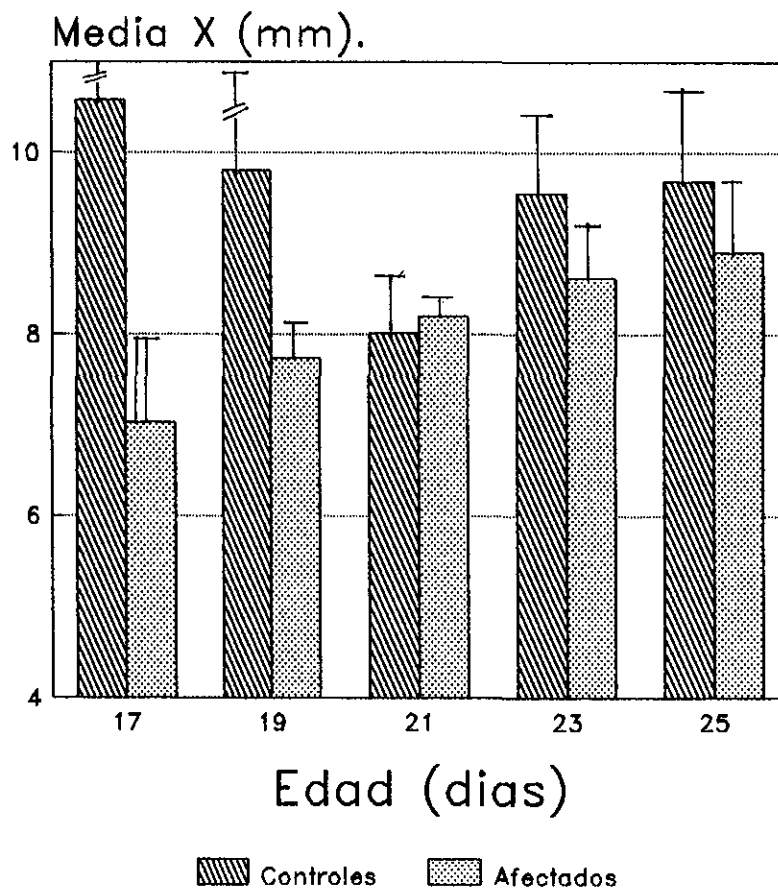
OI = Oligodendrocitos

P = Célula de Purkinje

SB = Substancia Blanca.

FIGURA A.- La figura muestra el promedio del diámetro horizontal del cerebelo en las ratas "MD" de 17, 19, 21, 23 y 25 días y sus respectivos testigos. La rata "MD" de 17 días muestra un diámetro horizontal cerebeloso mayor con una  $p < 0.05$  con respecto a sus testigos.

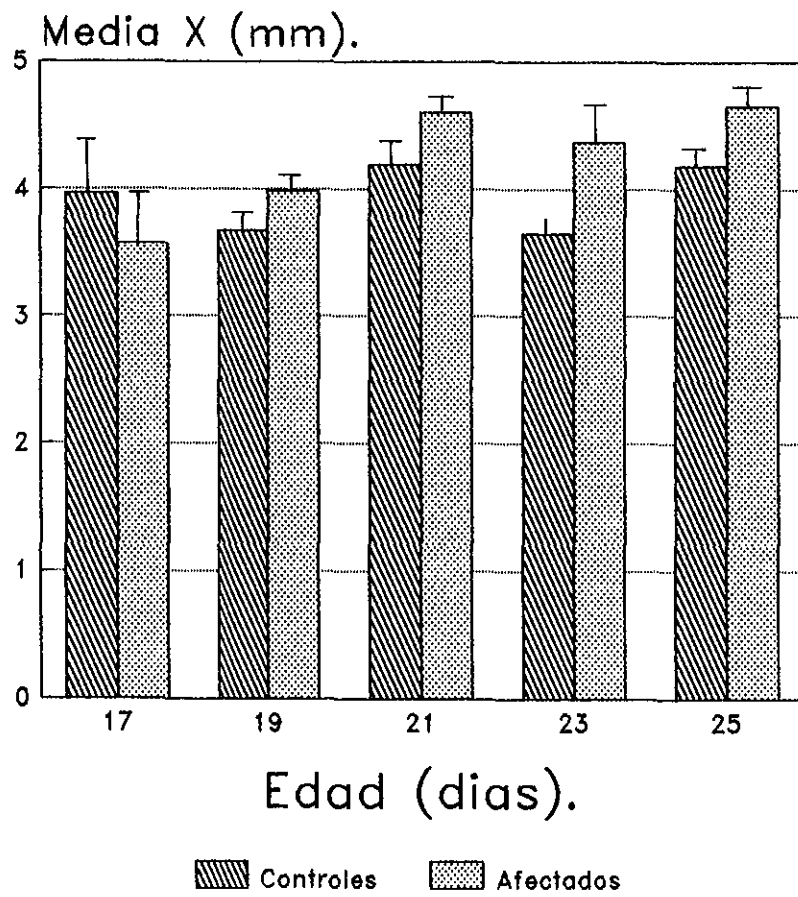
Figura A



Diametro Horizontal

FIGURA B.- La figura muestra el promedio del diámetro dorsoventral encontrado en el cerebelo de las ratas "MD" de 17, 19, 21, 23 y 25 días y sus respectivos testigos. No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las edades estudiadas.

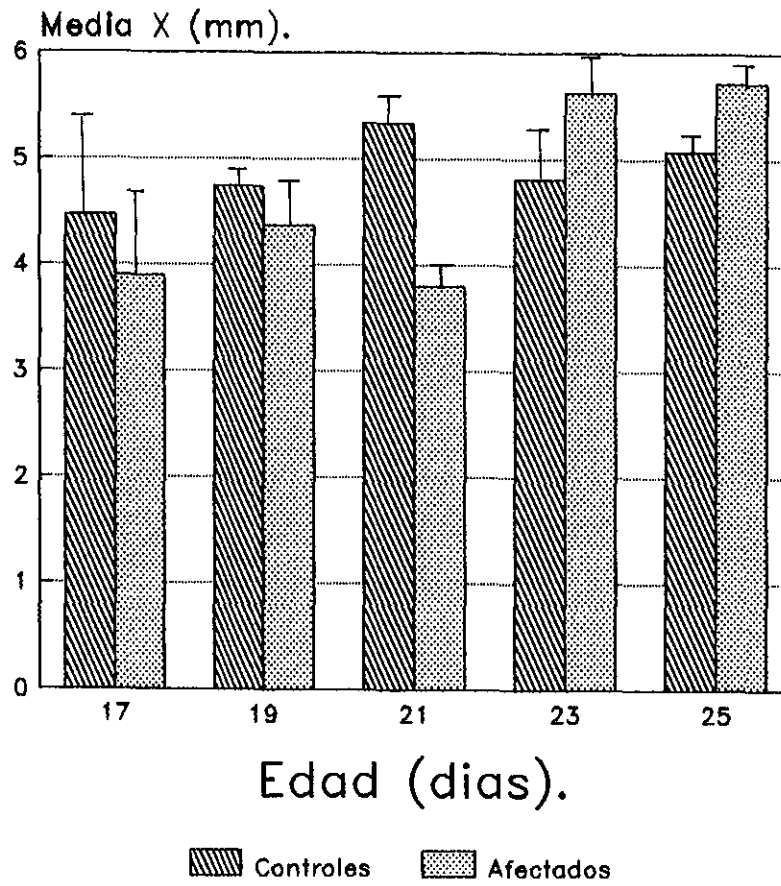
Figura B.



Diametro Dorsoventral

FIGURA C.- En la figura se muestra el promedio del diámetro rostrocaudal encontrado en el cerebelo de las ratas "MD" de 17, 19, 21, 23 y 25 días y el de sus respectivos testigos. El promedio de este diámetro fue significativamente mayor en el cerebelo de la rata "MD" de 21 días posnatales con una  $p < 0.05$ .

Figura C.



Diametro Rostrocaudal

FIGURA 1.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata Wistar normal de 17 días posnatales. Espesor de la capa granular externa = 21.6  $\mu\text{m}$ .

FIGURA 2.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata (md) deficiente en mielina de 17 días posnatales. Espesor de la capa granular externa = 45  $\mu\text{m}$ .



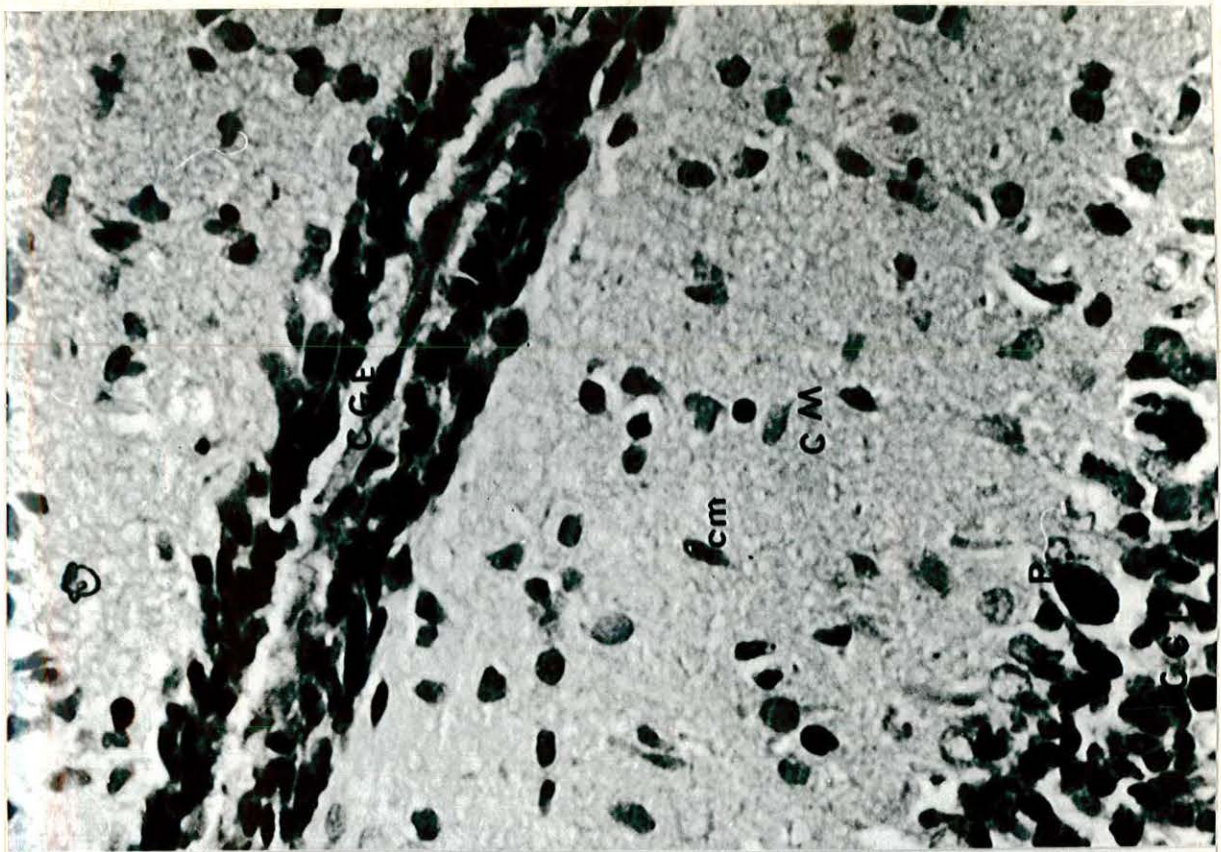


FIG 1

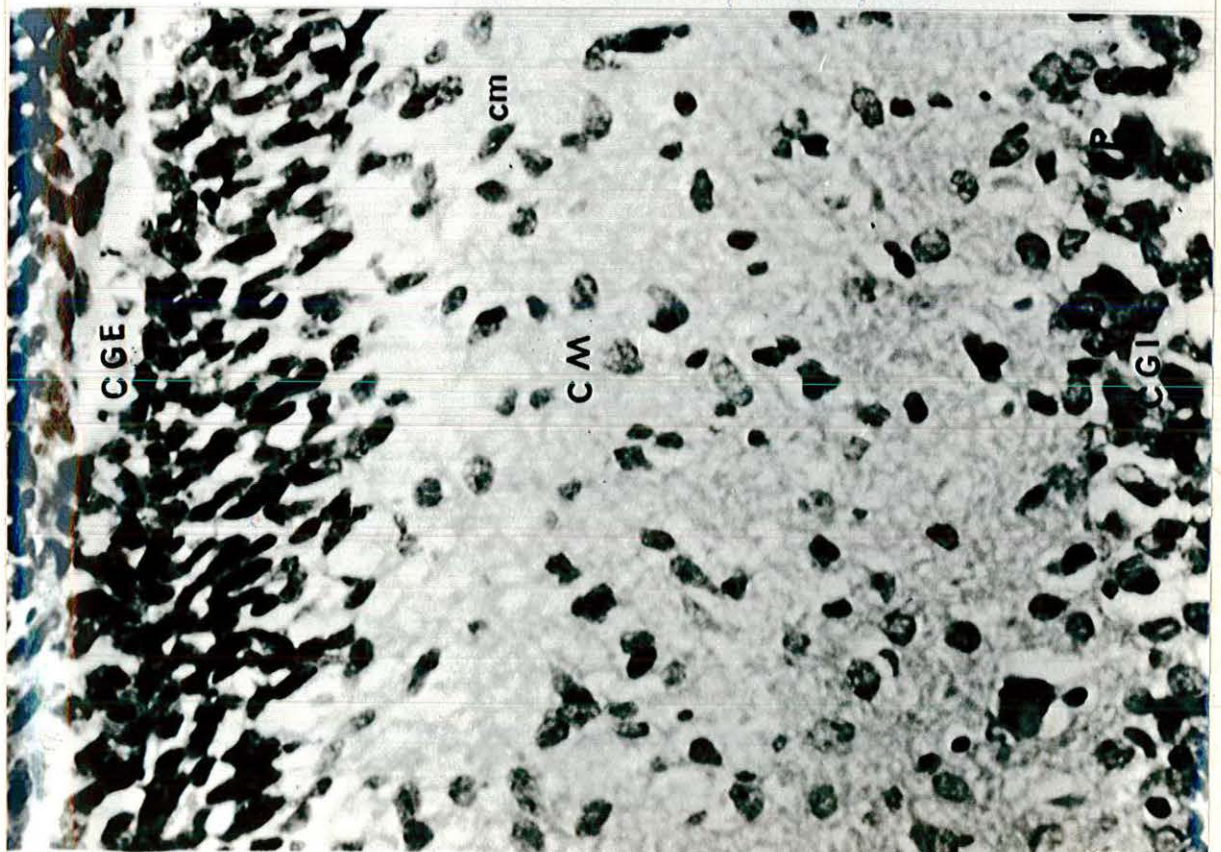


FIG 2

FIGURA 3.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de  
de corteza cerebelosa de rata Wistar normal de 19  
días. Espesor de la capa granular externa =  
10.8  $\mu$ m.

FIGURA 4.- Microfotografía de un corte sagital a nivel  
de corteza cerebelosa de rata (md) de  
19 días.  
Espesor de la capa granular externa = 25.2  $\mu$ m.



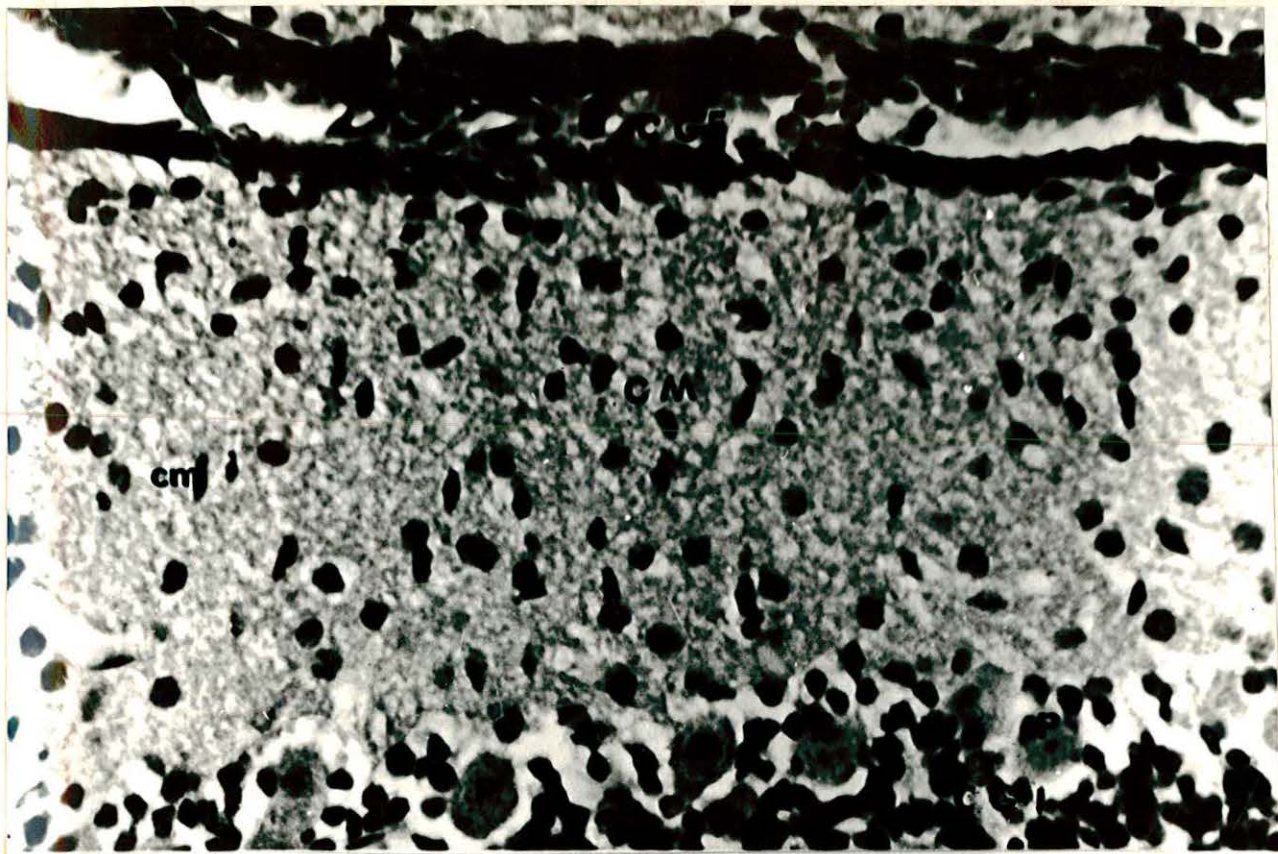


FIG 3

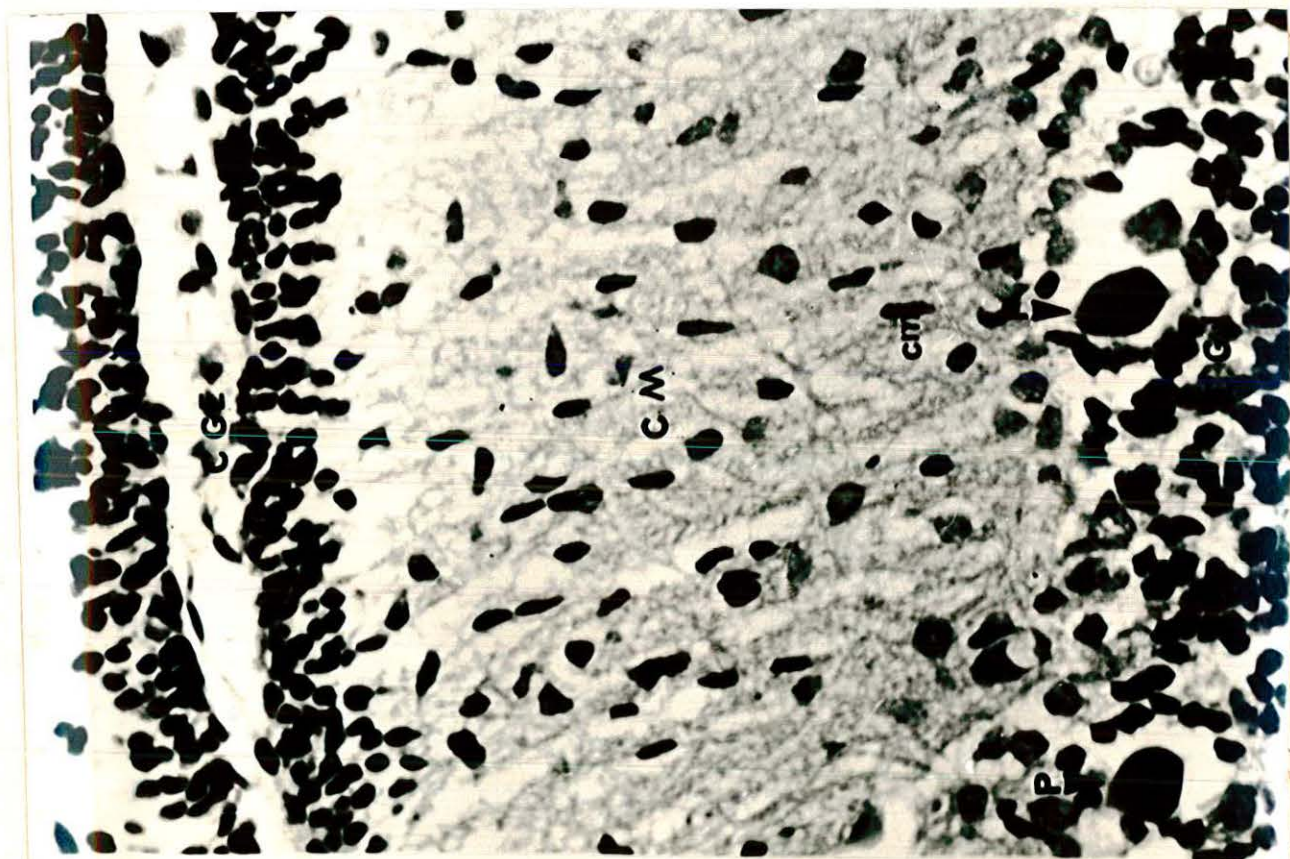


FIG 4

FIGURA 5.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata Wistar normal de 22 días posnatales. Espesor de la capa granular externa = 5.4  $\mu\text{m}$ .

FIGURA 6.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata (md) de 22 días . Espesor de la capa granular externa = 10.8  $\mu\text{m}$ .



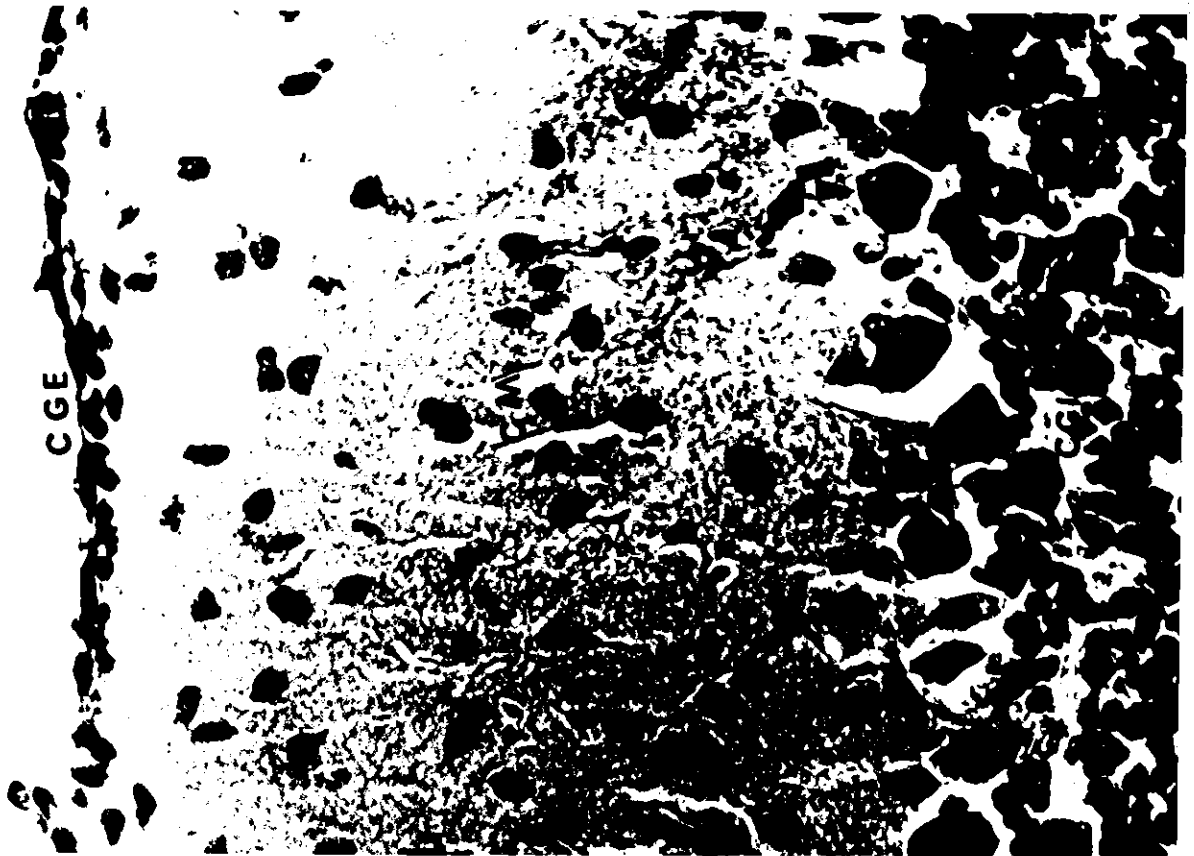


FIG 5

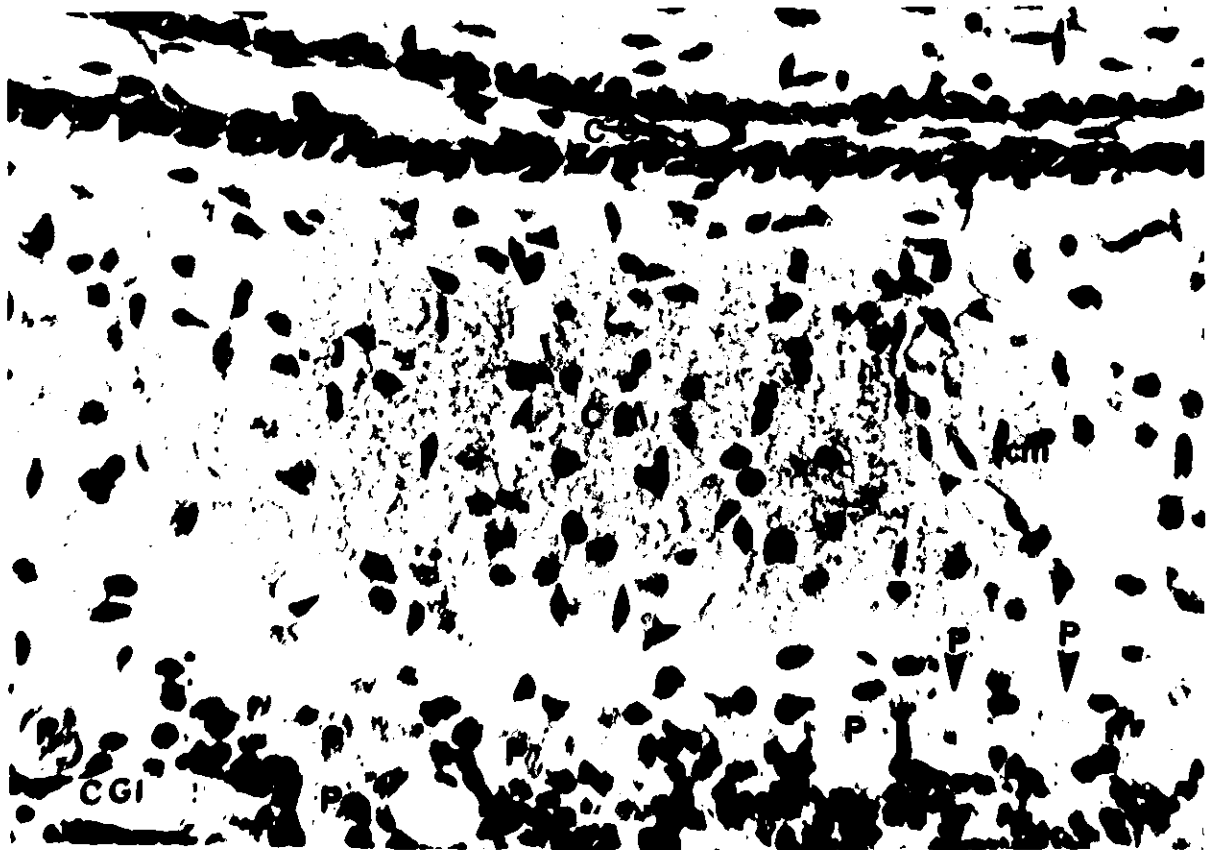


FIG 6

FIGURA 7.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata Wistar normal de 23 días. La capa granular externa está ausente.

FIGURA 8.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata "MD" de 23 días posnatales. Espesor de la capa granular externa = 7.2  $\mu$ m. Las células de Purkinje se muestran ectópicas.

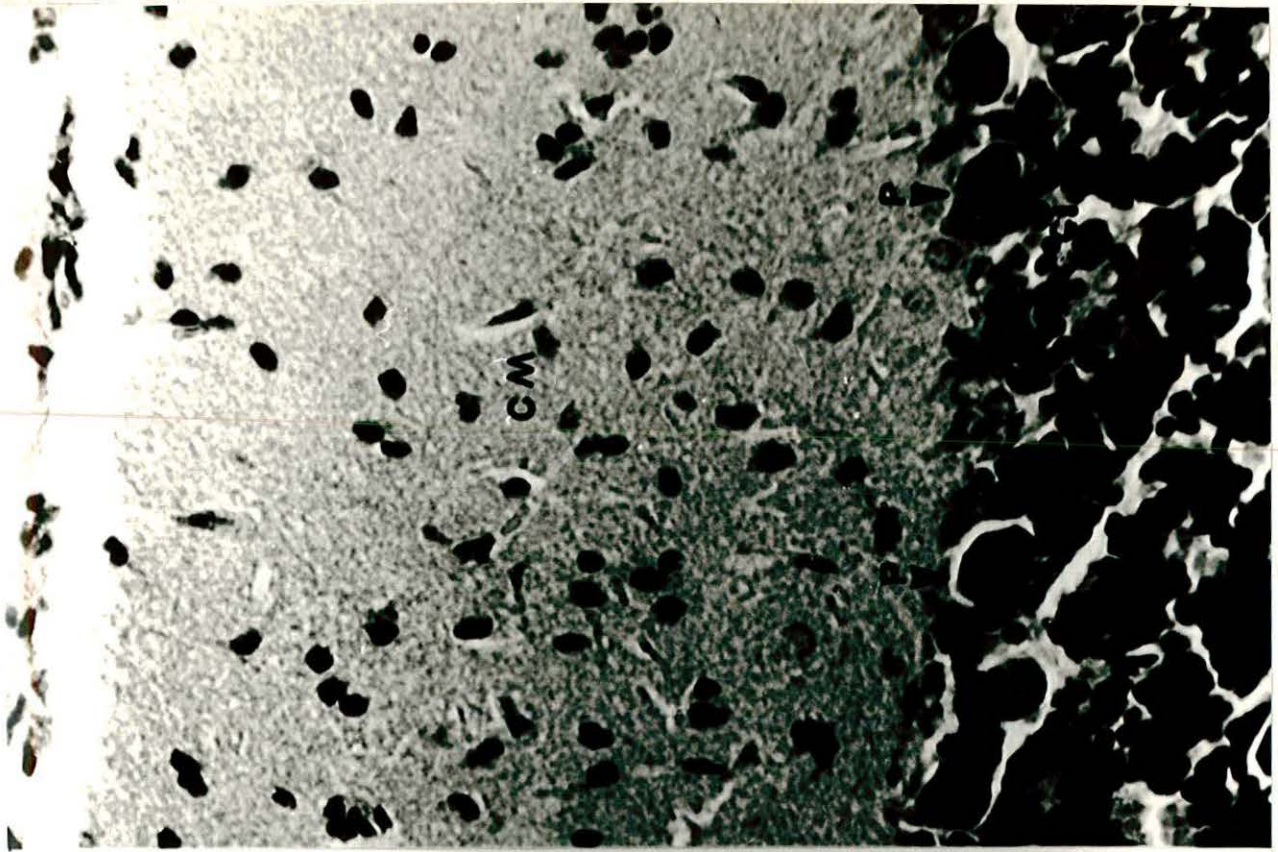


FIG 7

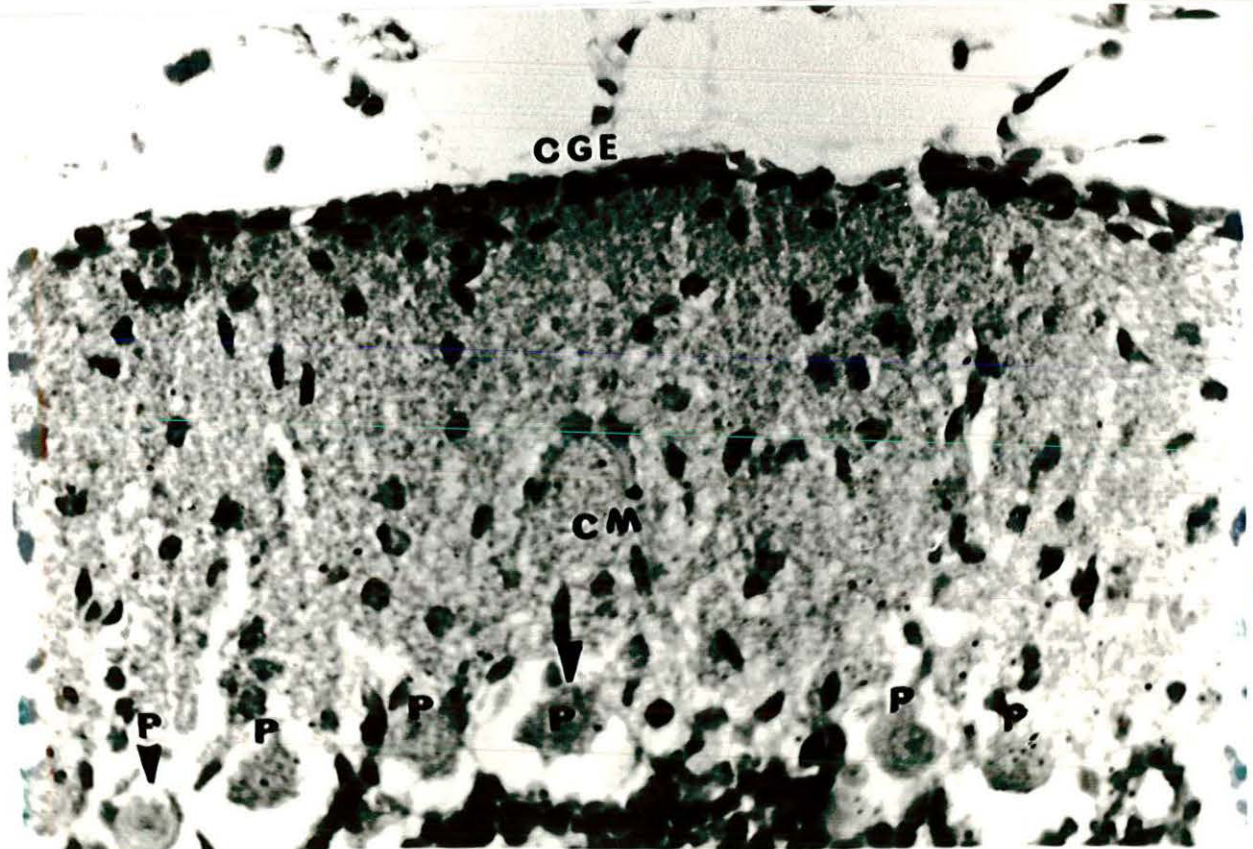


FIG 8

FIGURA 9.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata Wistar normal de 25 días posnatales. la capa granular externa está ausente.

FIGURA 10.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata "MD" de 25 días posnatales. La capa granular externa aún persiste formando un estrato de 1 a 2 células en la mayoría de los lóbulos. Las células de Purkinje se aprecian desubicadas por lo que pierden su alineamiento normal.



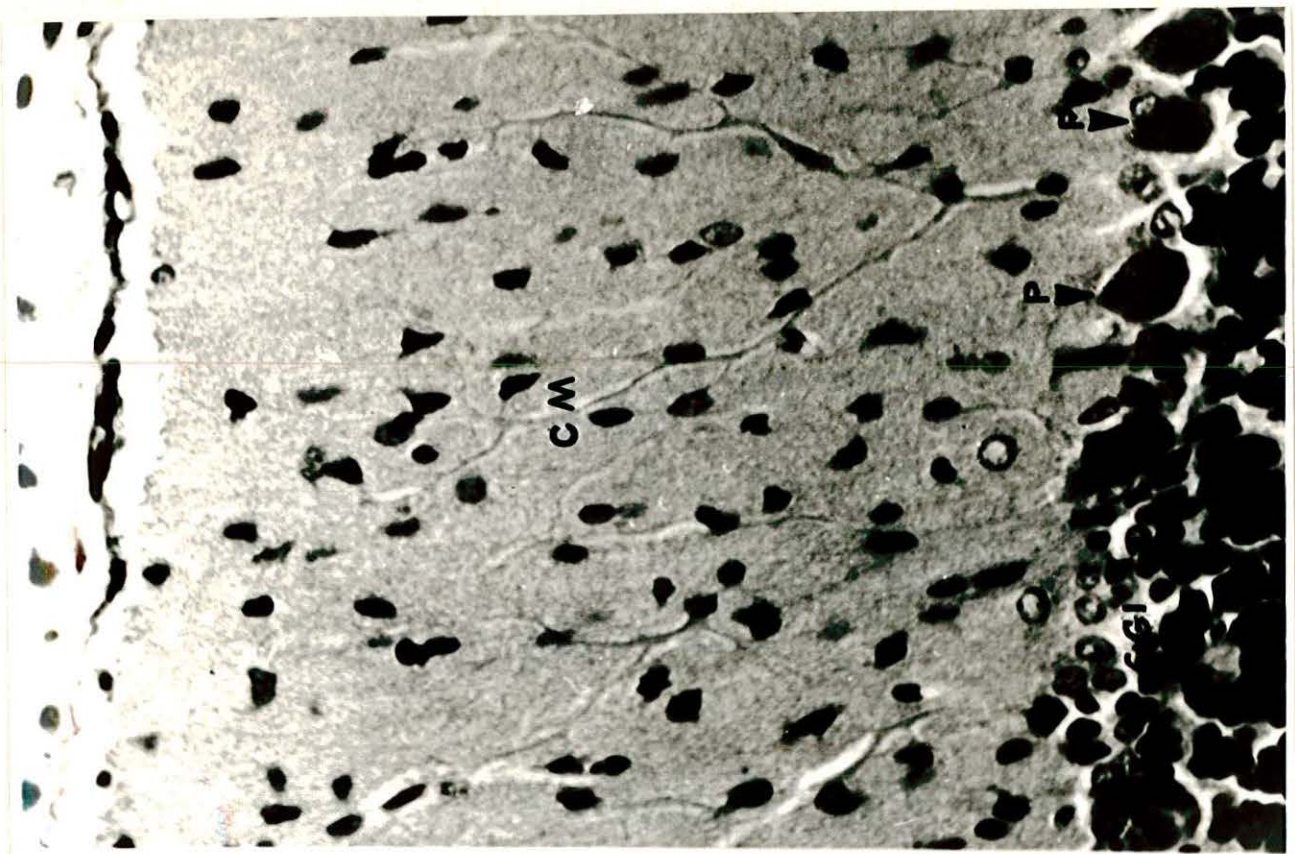


FIG 9

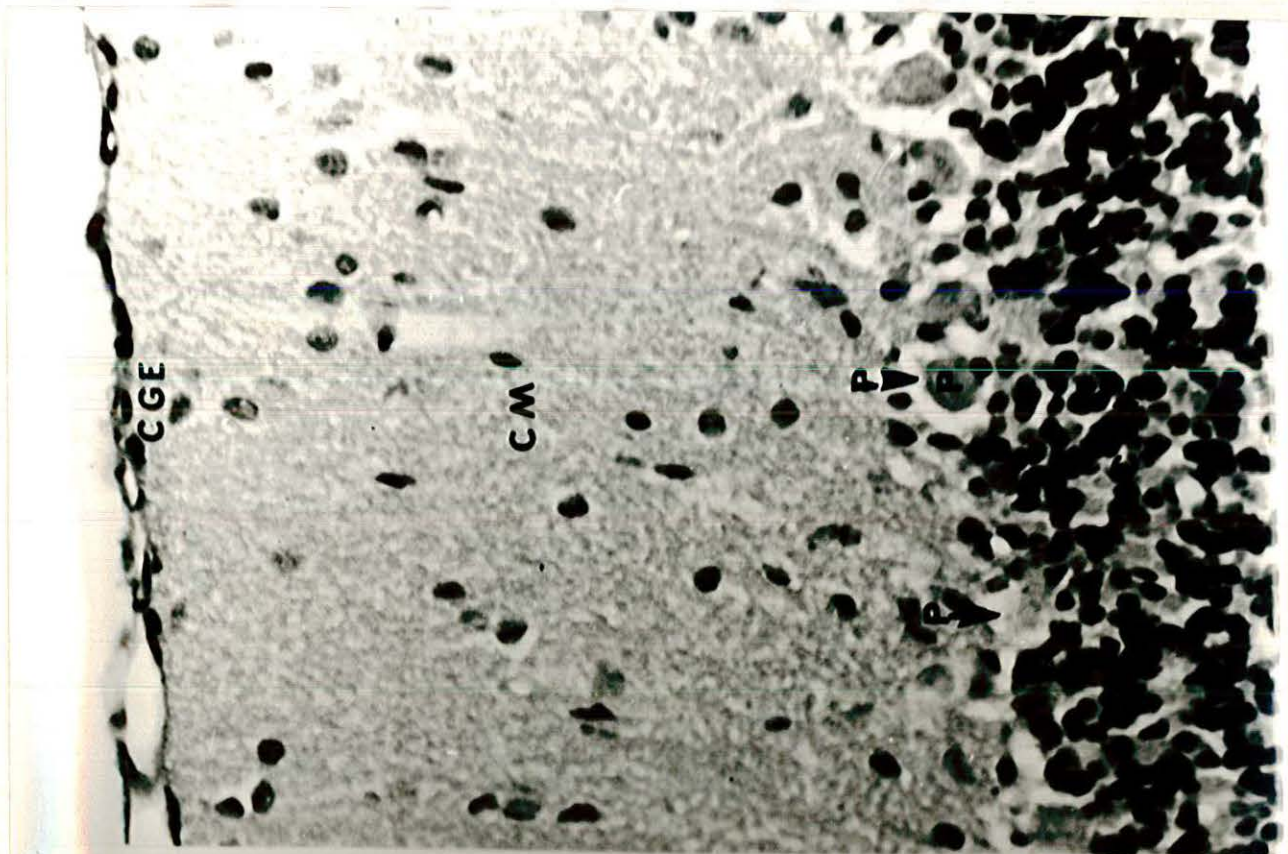


FIG 10

FIGURA 11.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de sustancia blanca cerebelosa en rata Wistar normal de 17 días posnatales. Los oligodendrocitos se muestran alineados en hileras de 3 a 8 células. Los fascículos fibrosos corren longitudinal y transversalmente.

FIGURA 12.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de sustancia blanca cerebelosa de rata "MD" de 17 días. Los fascículos fibrosos se observan desorganizados, con disminución del espesor, esta alteración provoca un desfasamiento de los oligodendrocitos.



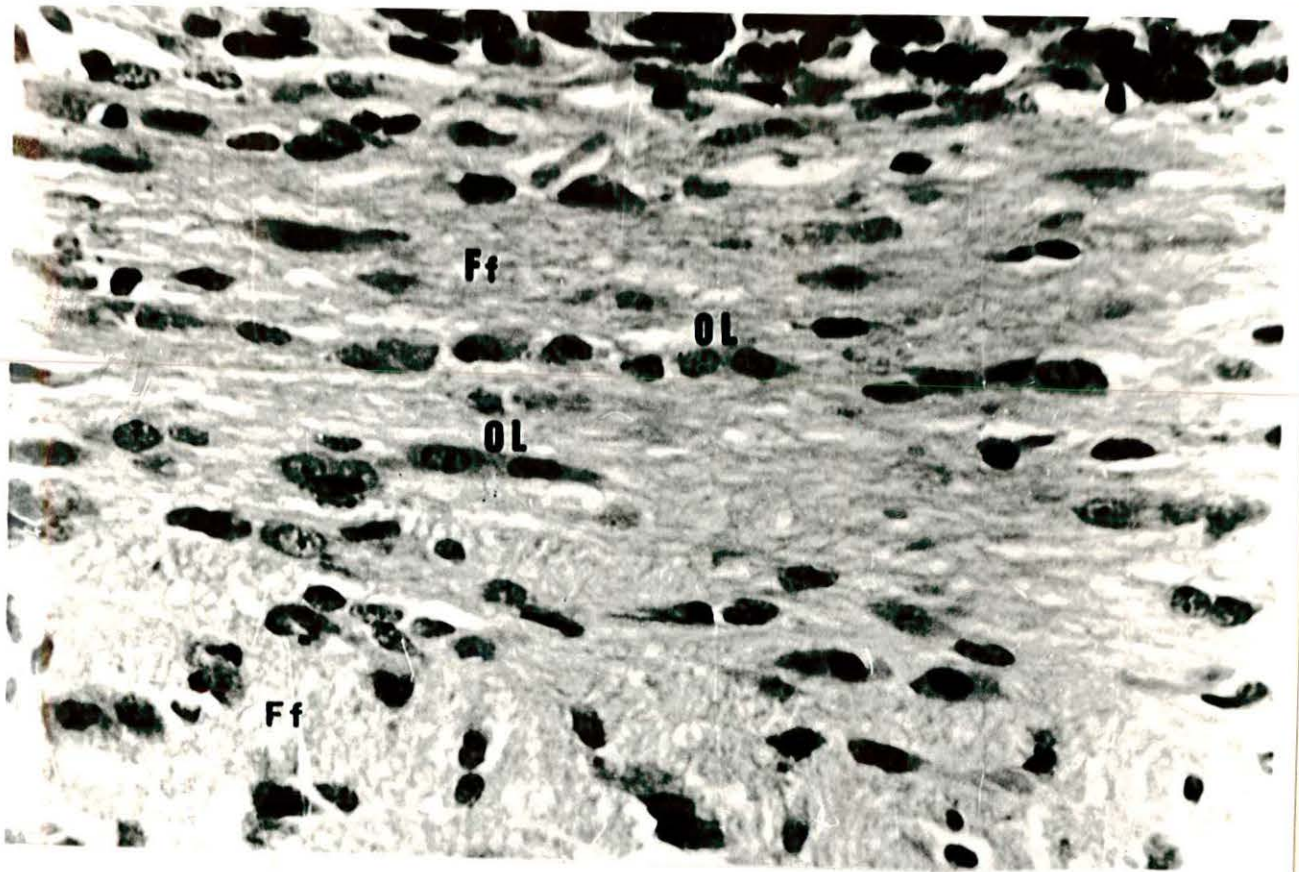


FIG 11



FIG 12

FIGURA 13.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de la sustancia blanca cerebelosa de la rata wistar normal de 19 días. La distribución, disposición y espesor de los fascículos fibrosos, permite el arreglo característico de los oligodendrocitos en grupos de 3 o más.

FIGURA 14.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de sustancia blanca cerebelosa de rata "MD" de 19 días. Los fascículos fibrosos se muestran disociados. Y los oligodendrocitos pierden su alineamiento normal.

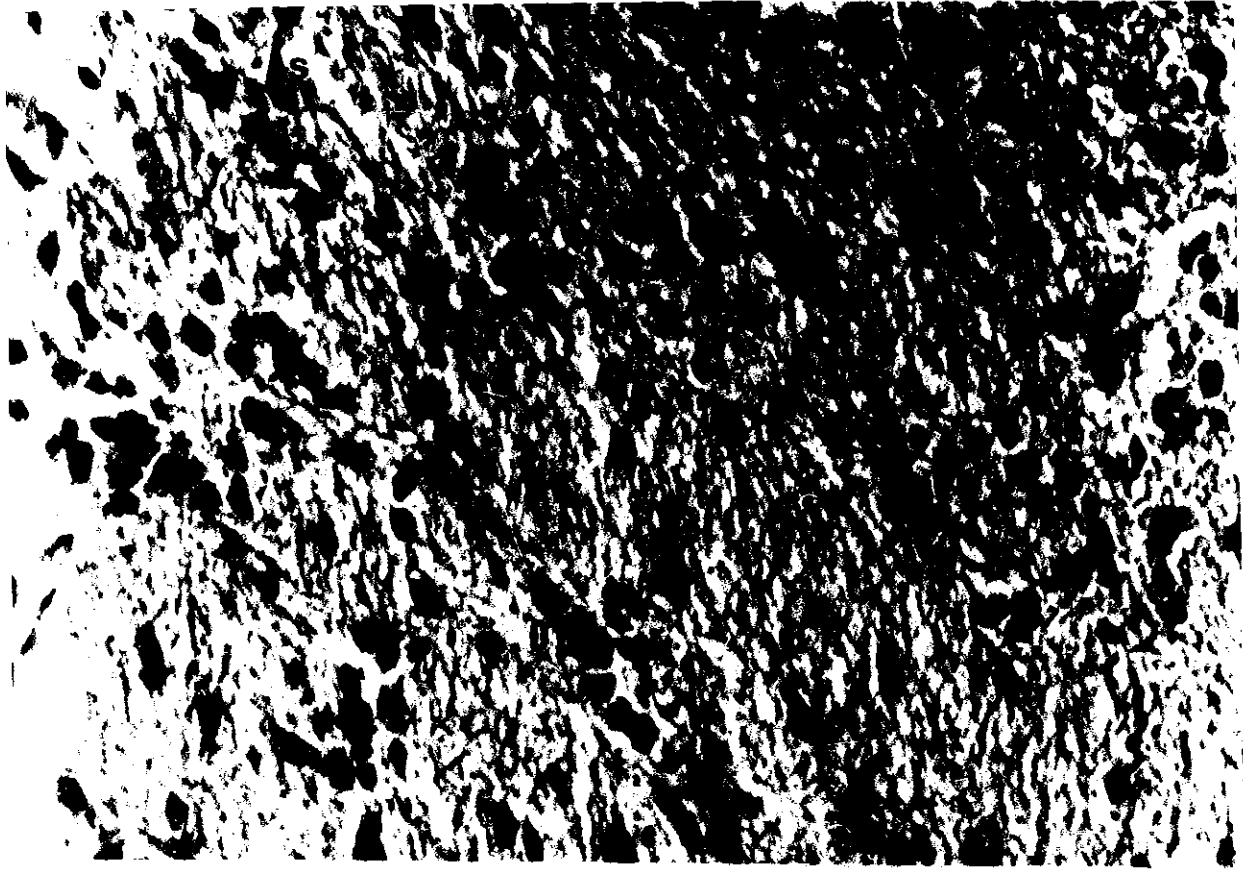


FIG 13



FIG 14

FIGURA 15.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de sustancia blanca cerebelosa de rata Wistar normal de 21 días. Se observa una disposición y empaquetamiento normal en los haces fibrosos. Los oligodendrocitos adoptan su ordenamiento característico.

FIGURA 16.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de sustancia blanca cerebelosa en rata Wistar normal de 21 días posnatales. Los haces fibrosos se muestran desorganizados, flojos entre si y el patrón de alineamiento de los oligodendrocitos se pierde totalmente.



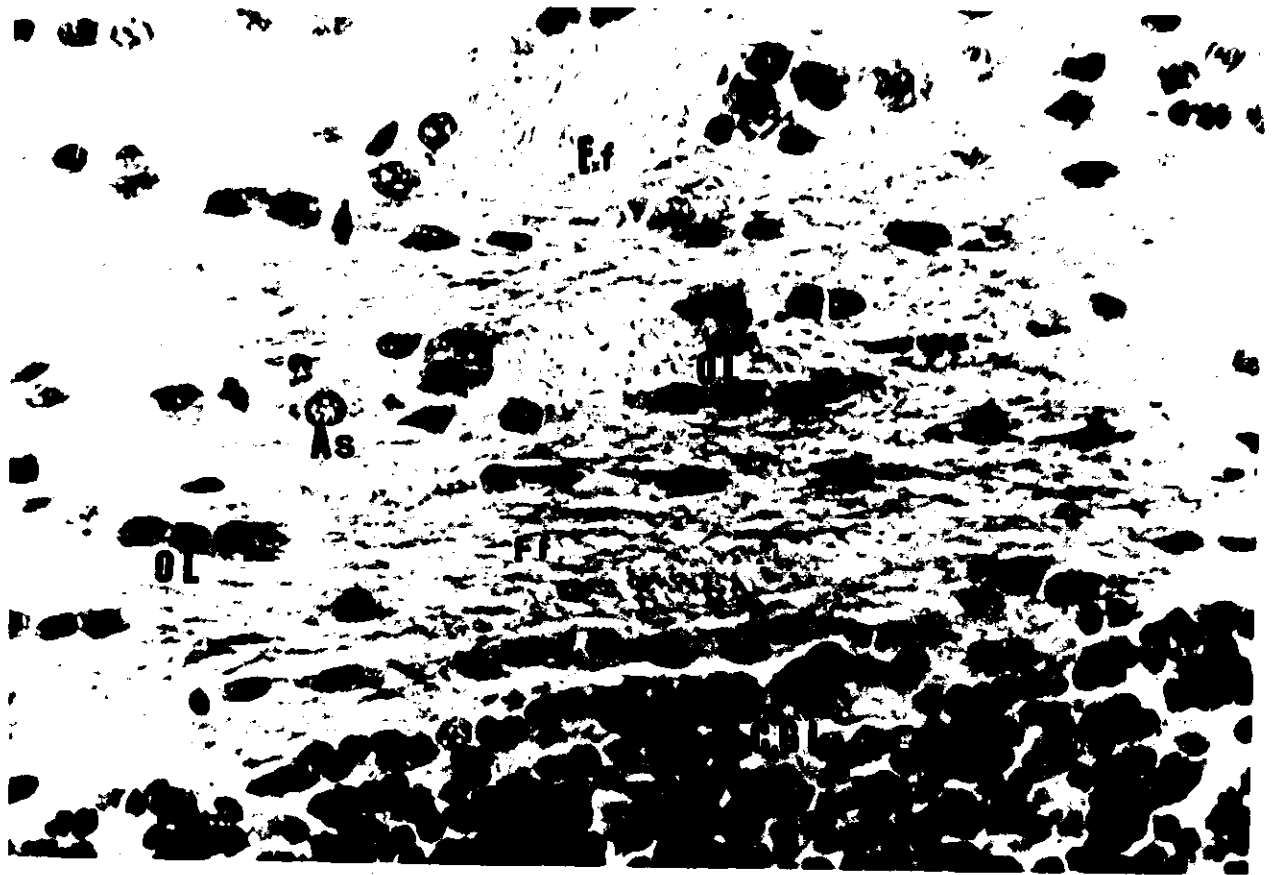


FIG 15

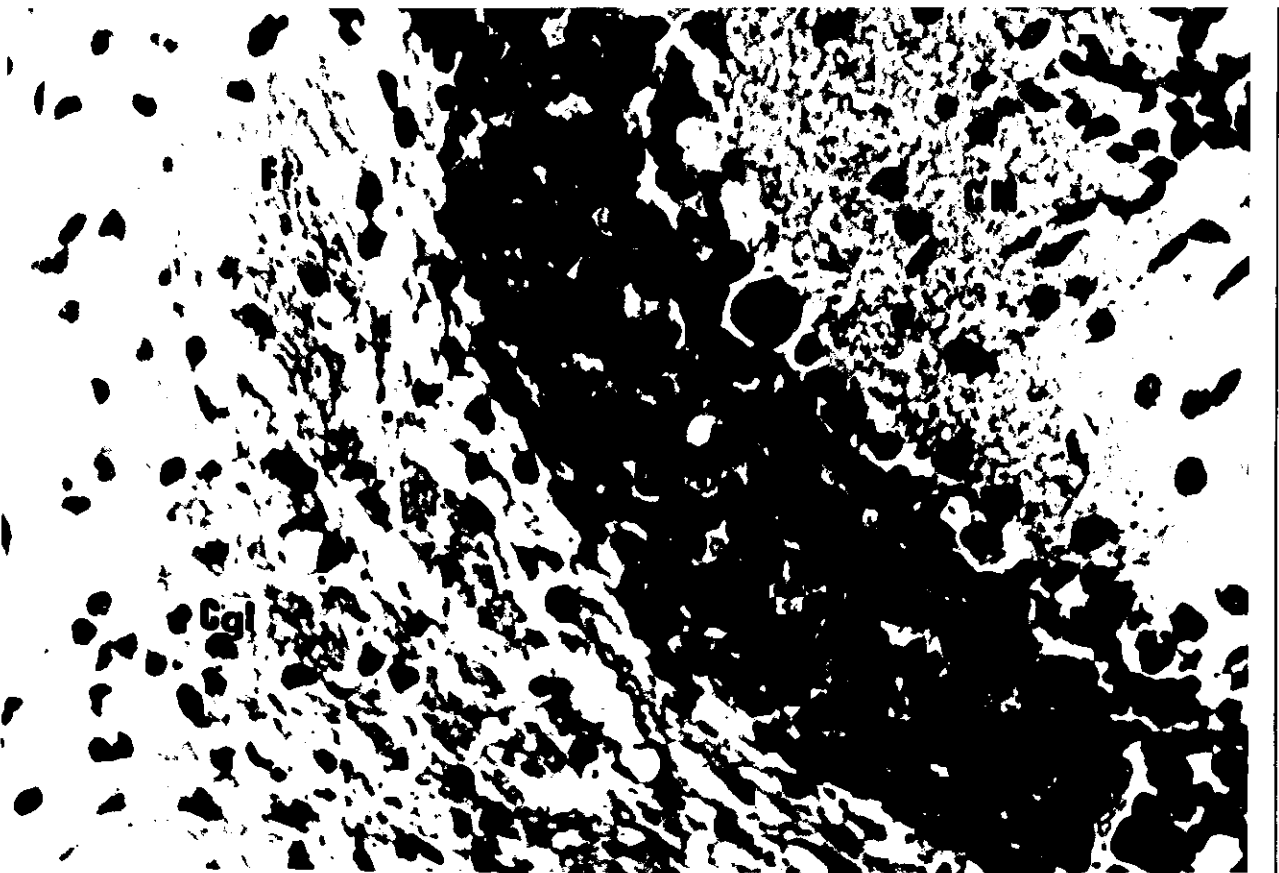


FIG 16

FIGURA 17.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de sustancia blanca cerebelosa de rata Wistar normal de 23 días posnatales. Los haces fibrosos se dirigen longitudinal y transversalmente mostrando algunos entrecruzamientos. Los oligodendrocitos se ordenan en forma de cadenas.

FIGURA 18.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de sustancia blanca cerebelosa de rata "MD" de 23 días. Los haces fibrosos se muestran pobremente empaquetados. Los oligodendrocitos están ausentes casi totalmente. los astrocitos se observan hipertróficos.



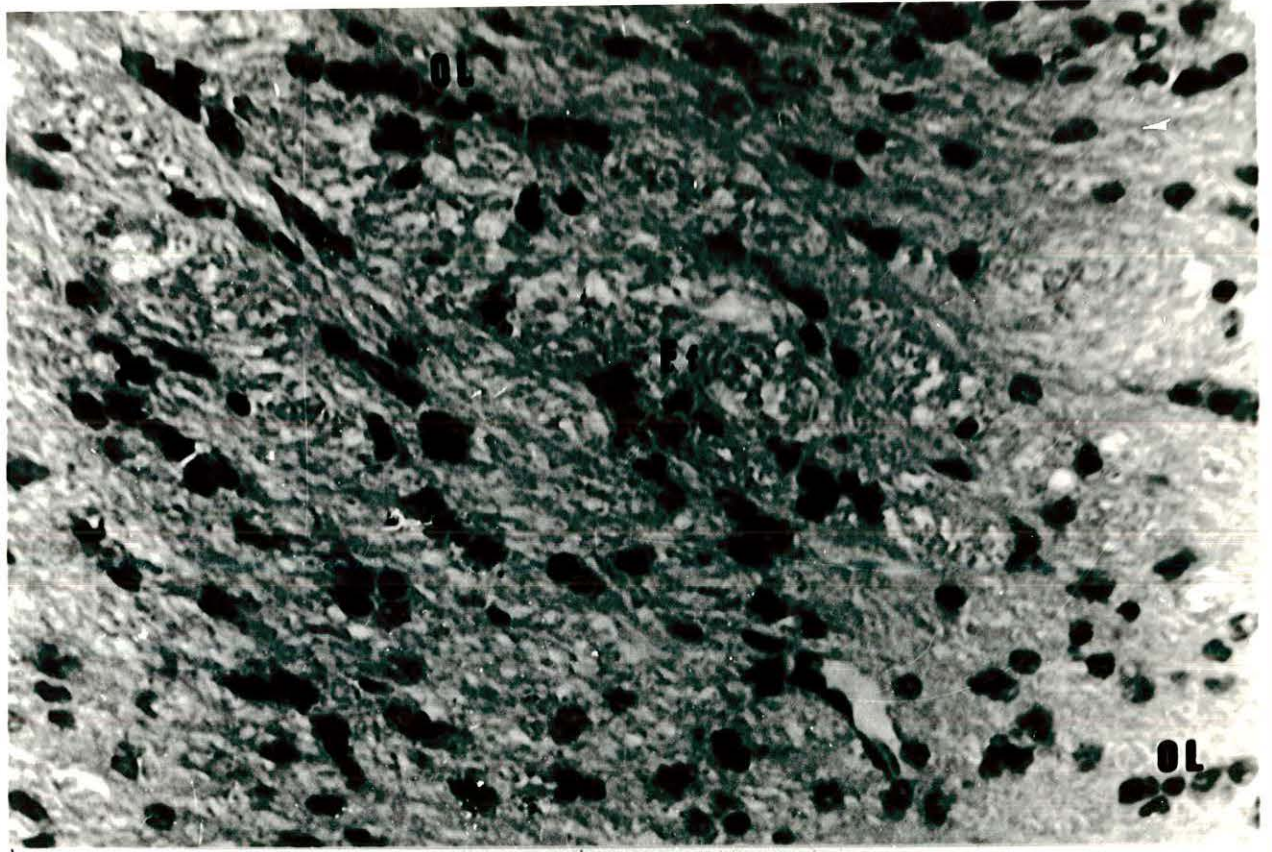


FIG 17

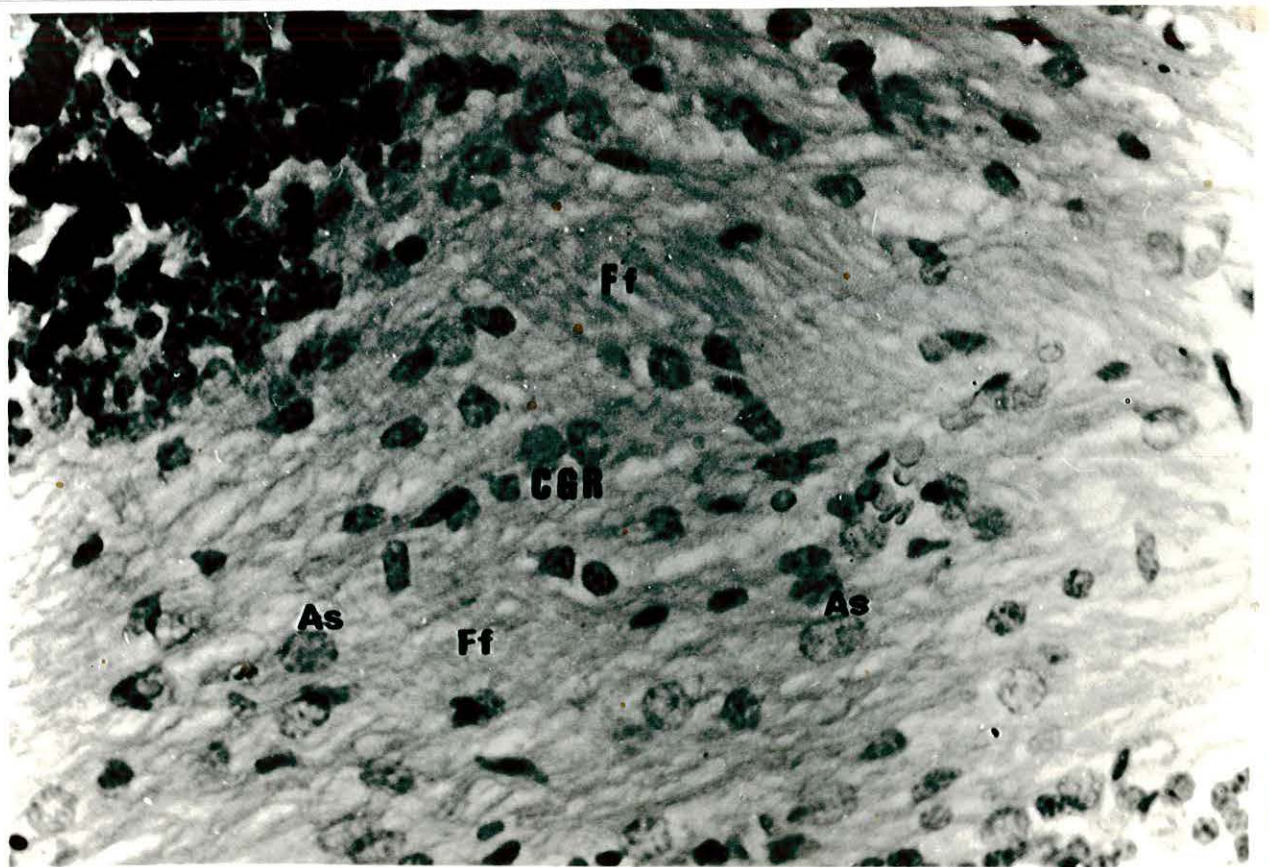


FIG 10

FIGURA 19.- Microfotografía a nivel de substancia blanca cerebelosa en rata Wistar normal de 25 días posnatales. Los haces fibrosos se orientan tanto longitudinal como transversalmente, se aprecia además un empaquetamiento y distribución normal de los mismos. Los oligodendrocitos se agrupan de 4 a 8.

FIGURA 20.- Microfotografía a nivel de substancia blanca cerebelosa en rata "MD" de 25 días posnatales. Los haces fibrosos no se asocian adecuadamente por lo que se observan flojos entre si. Los oligodendrocitos están ausentes casi totalmente.



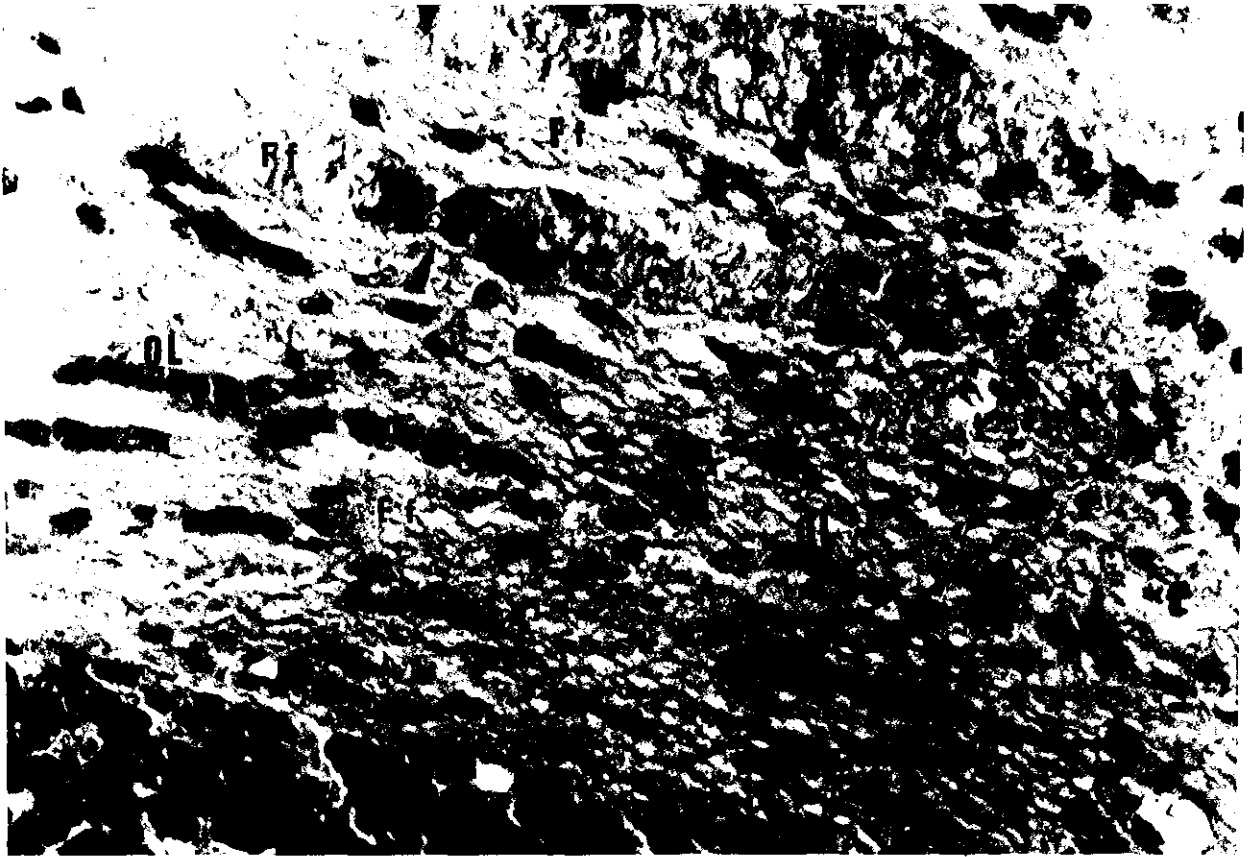


FIG 19



FIG 20

FIGURA 21.- Microfotografía a nivel de bulbo raquídeo de rata Wistar normal de 17 días. Los haces fibrosos se dirigen longitudinalmente, mostrando un empaquetamiento normal. Los oligodendrocitos se organizan en grupos de 3 a 10 células alineados a manera de cadenas.

FIGURA 22.- Microfotografía a nivel de bulbo raquídeo de rata "MD" de 17 días posnatales. Se aprecia una ligera disociación de los haces fibrosos lo que modifica el patrón de alineamiento de los oligodendrocitos.

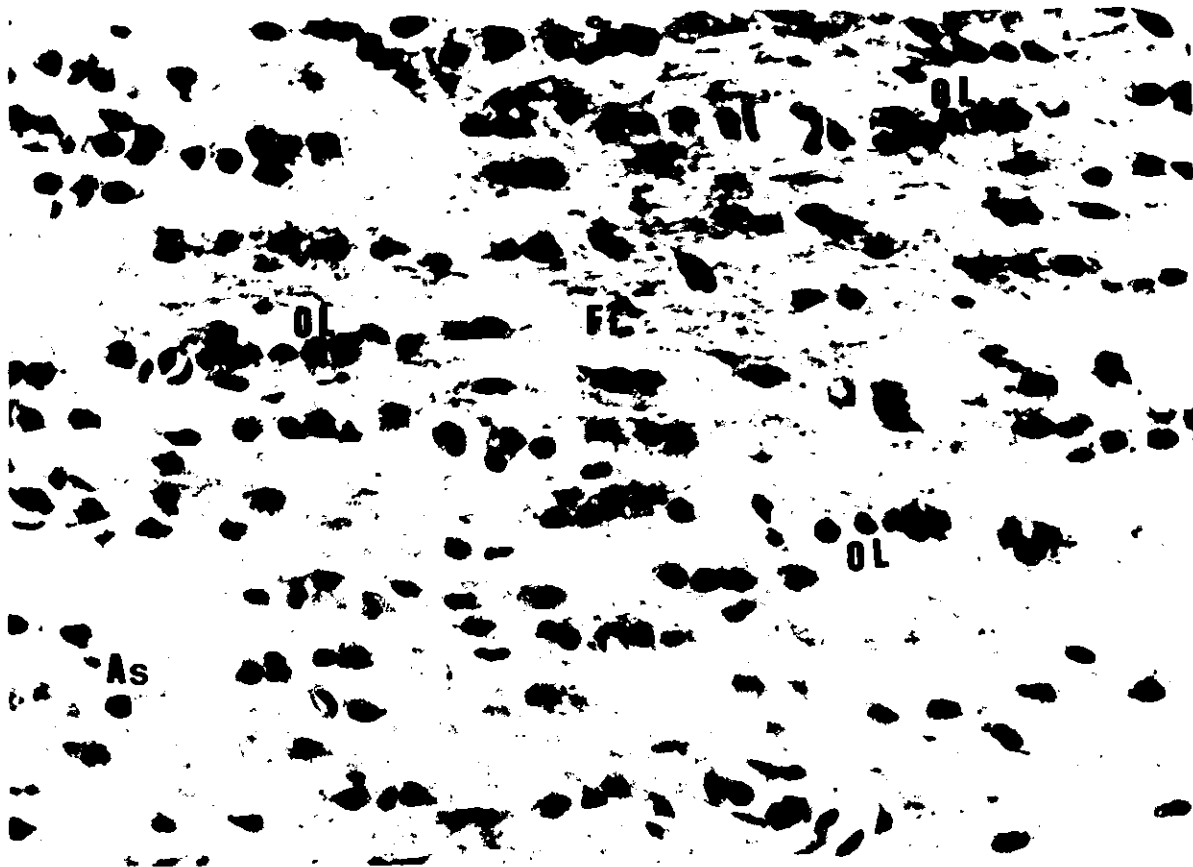


FIG 21

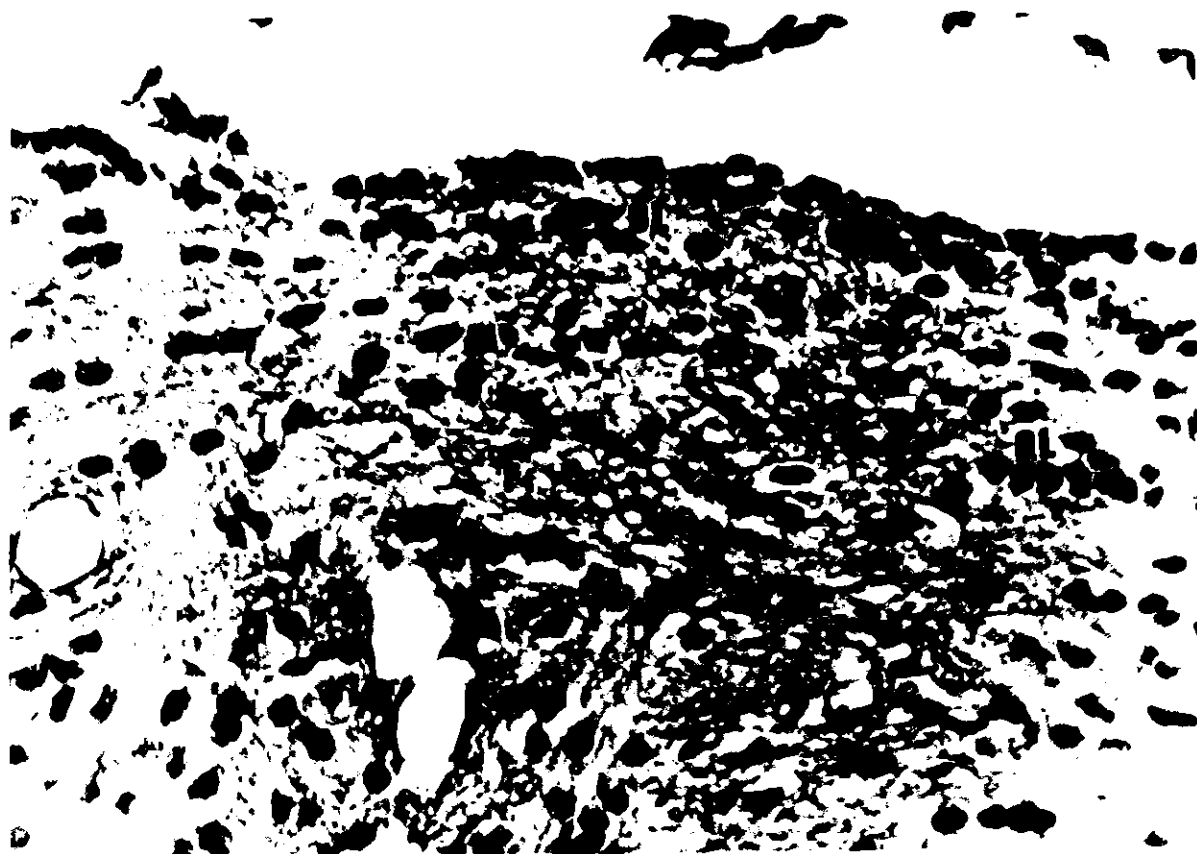


FIG 22

FIGURA 23.- Microfotografía a nivel de bulbo raquídeo de rata normal de 19 días posnatales. Los haces fibrosos se muestran altamente organizados lo que permite el arreglo característico de los oligodendrocitos a manera de cadenas.

FIGURA 24.- Microfotografía a nivel de bulbo raquídeo en la rata "MD" de 19 días posnatales. Se observa una disminución en el espesor de los haces fibrosos y no se empaquetan adecuadamente. Los oligodendrocitos se muestran desorganizados.



FIG 23



FIG 24

FIGURA 25.- Microfotografía a nivel de bulbo raquídeo en rata Wistar normal de 21 días posnatales. Los haces fibrosos se agrupan longitudinalmente y los oligodendrocitos se aprecian en conjuntos de 4 a 8.

FIGURA 26.- Microfotografía a nivel de sustancia blanca en bulbo raquídeo de la rata "MD" de 21 días posnatales. Los haces fibrosos se muestran disociados con dirección mixta. Se presenta una severa disminución del número de oligodendrocitos.



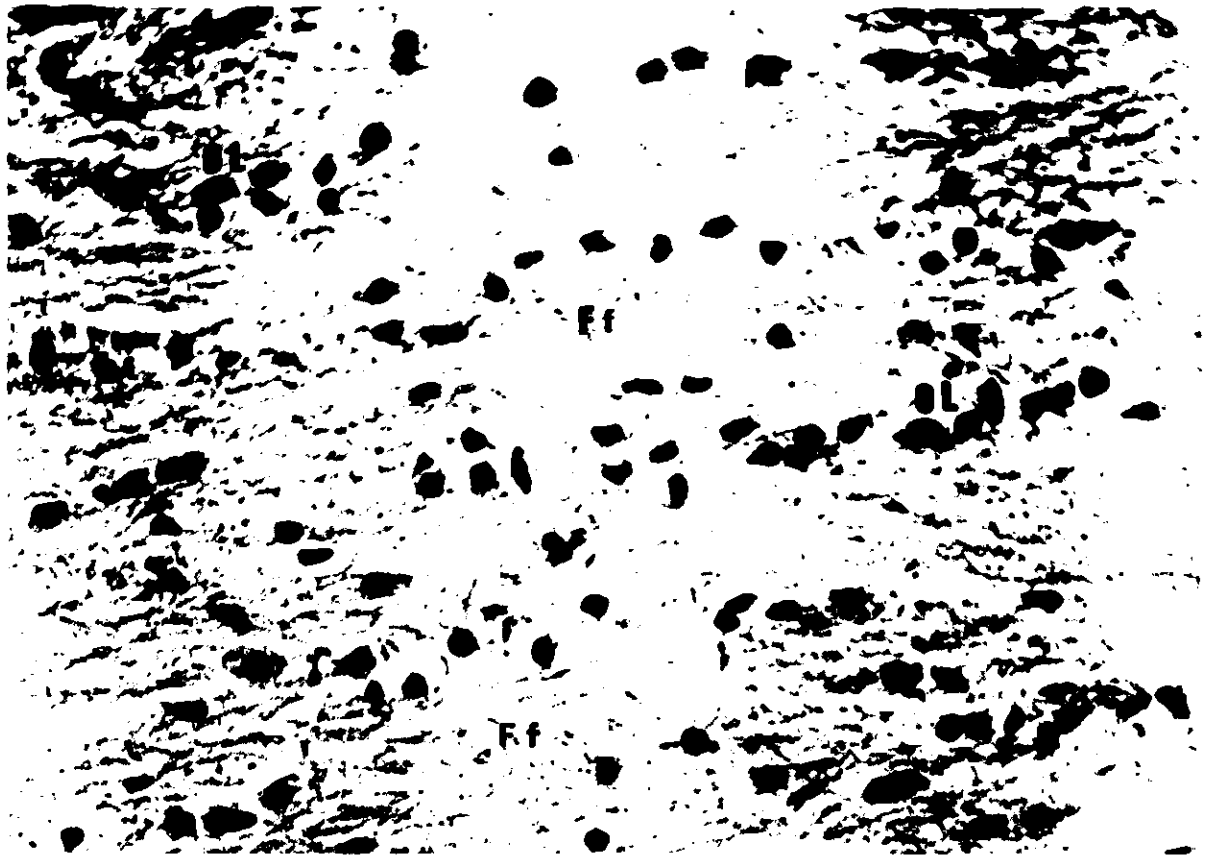


FIG 25

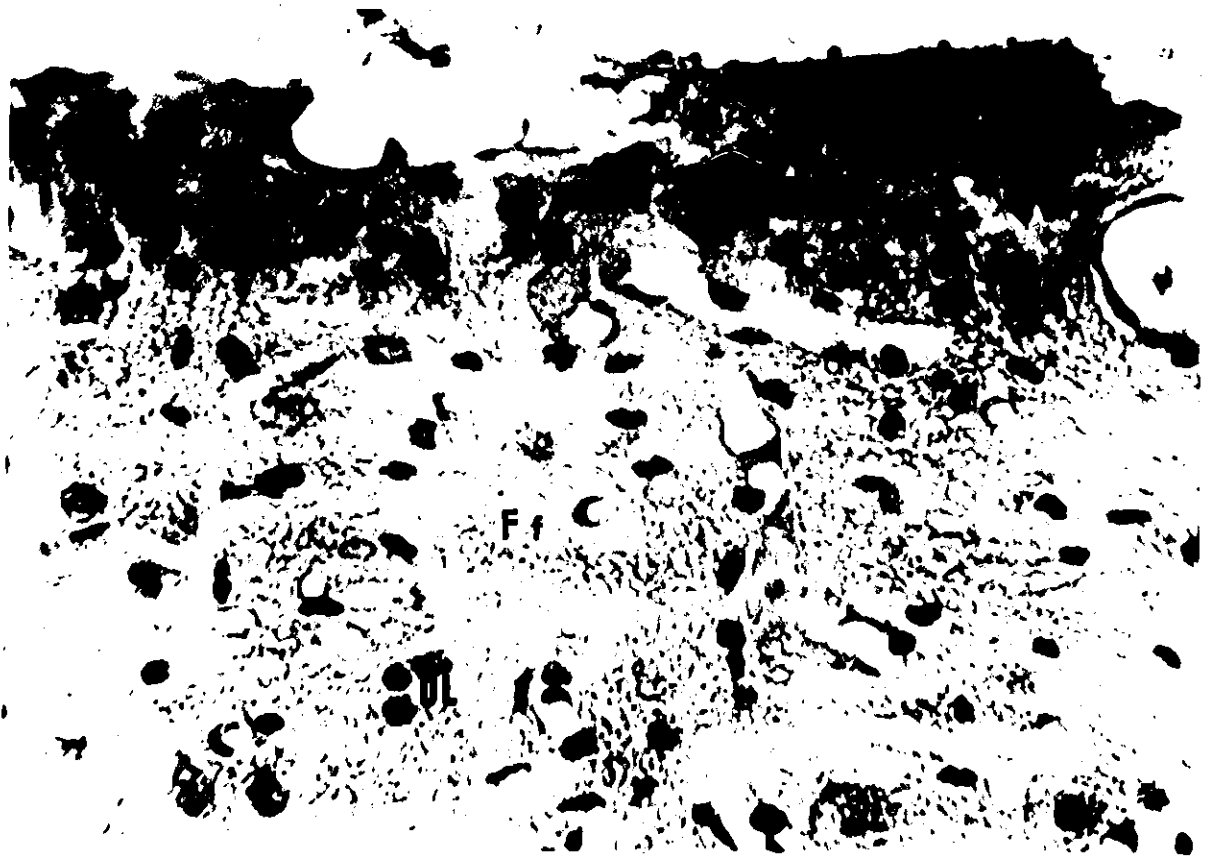


FIG 26

FIGURA 27.- Microfotografía a nivel de sustancia blanca de bulbo raquídeo en rata Wistar normal 23 días posnatales . Los haces fibrosos corren en dirección longitudinal con una relación bastante regular entre los mismos. Los oligodendrocitos se orientan de igual manera que los haces fibrosos y se agrupan de 4 a 10.

FIGURA 28.- Microfotografía de un corte a nivel de bulbo raquídeo en rata "MD" de 23 días posnatales. Los fascículos fibrosos se observan bastante disociados, lo que propicia una alteración en el alineamiento normal de los oligodendrocitos.



FIG 27

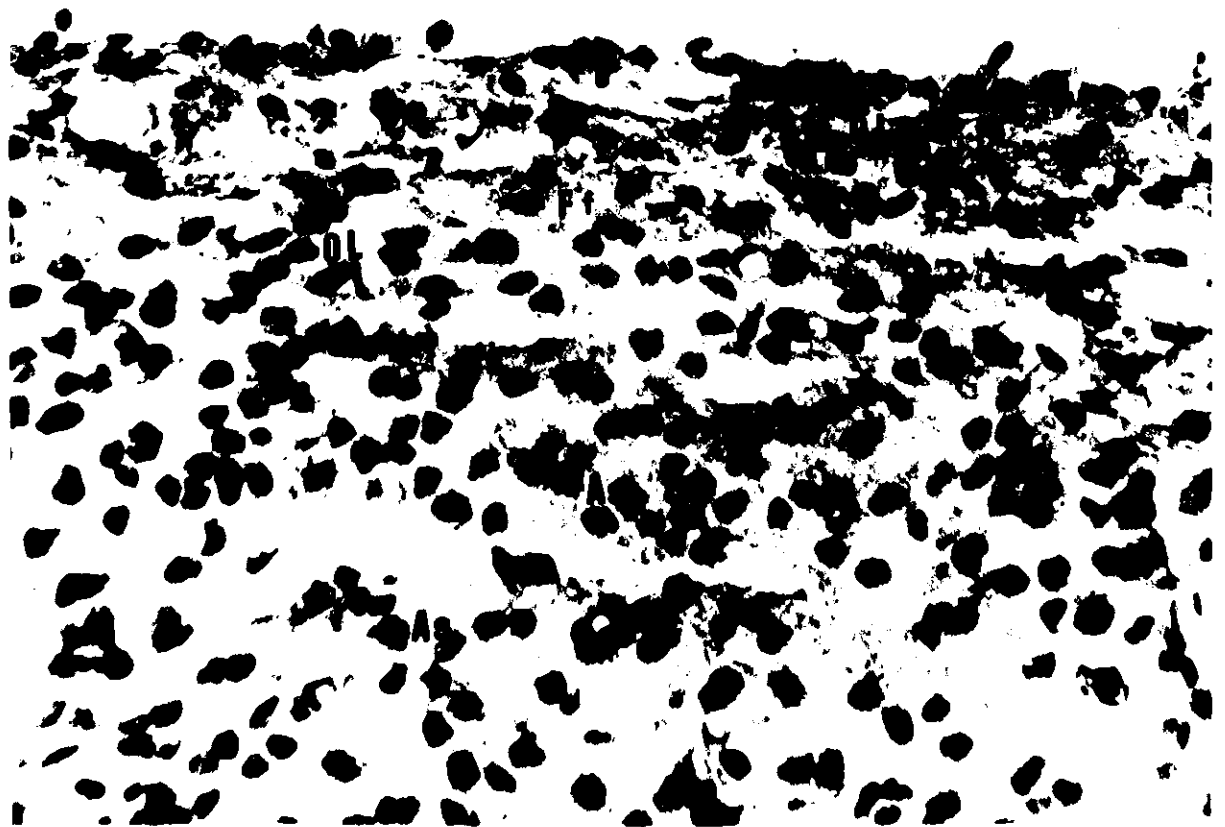


FIG 28

FIGURA 29.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de bulbo raquídeo de rata Wistar normal de 25 días posnatales. Los fascículos fibrosos se orientan longitudinalmente y su empaquetamiento es altamente regular. Los oligodendrocitos forman hileras.

FIGURA 30.- Microfotografía de un corte a nivel de bulbo raquídeo de rata "MD" de 25 días posnatales. Los fascículos fibrosos se observan ligeramente empaquetados. Existe una ausencia casi total de oligodendrocitos.

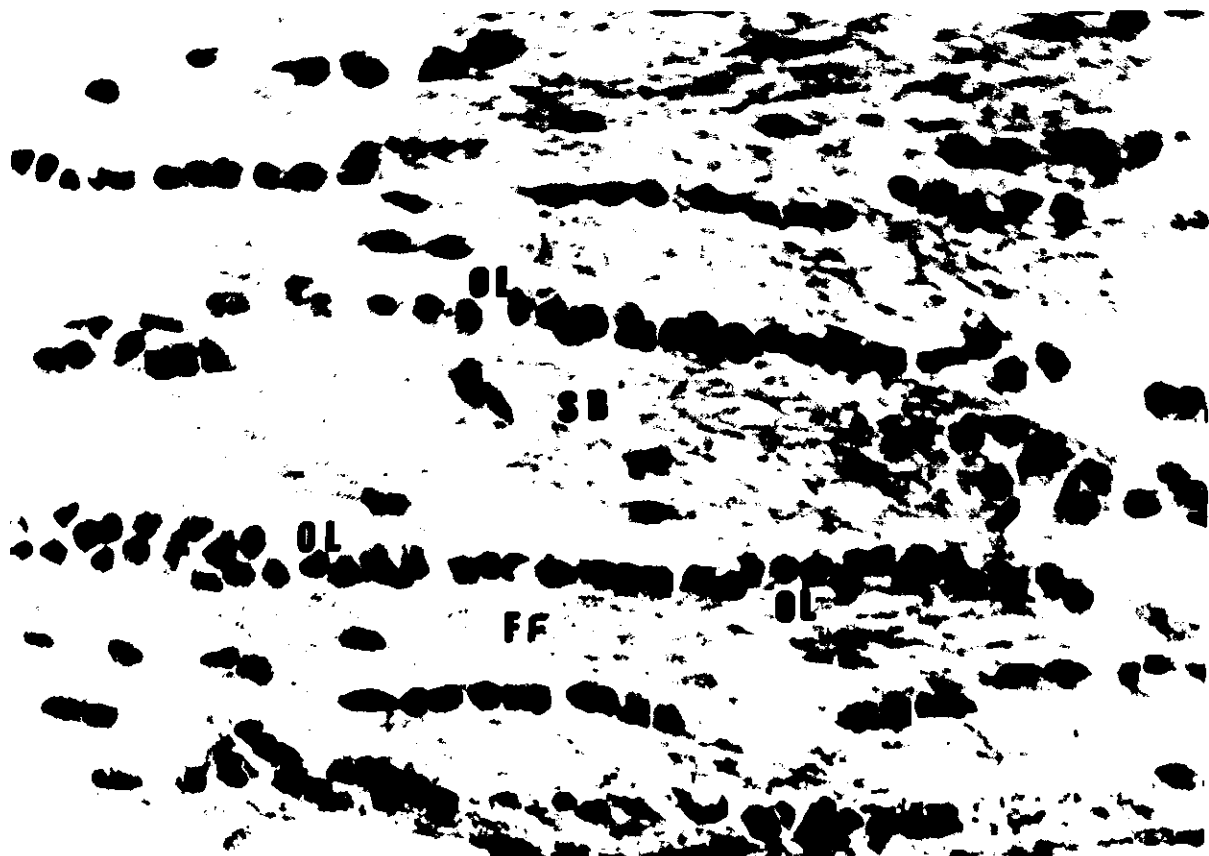


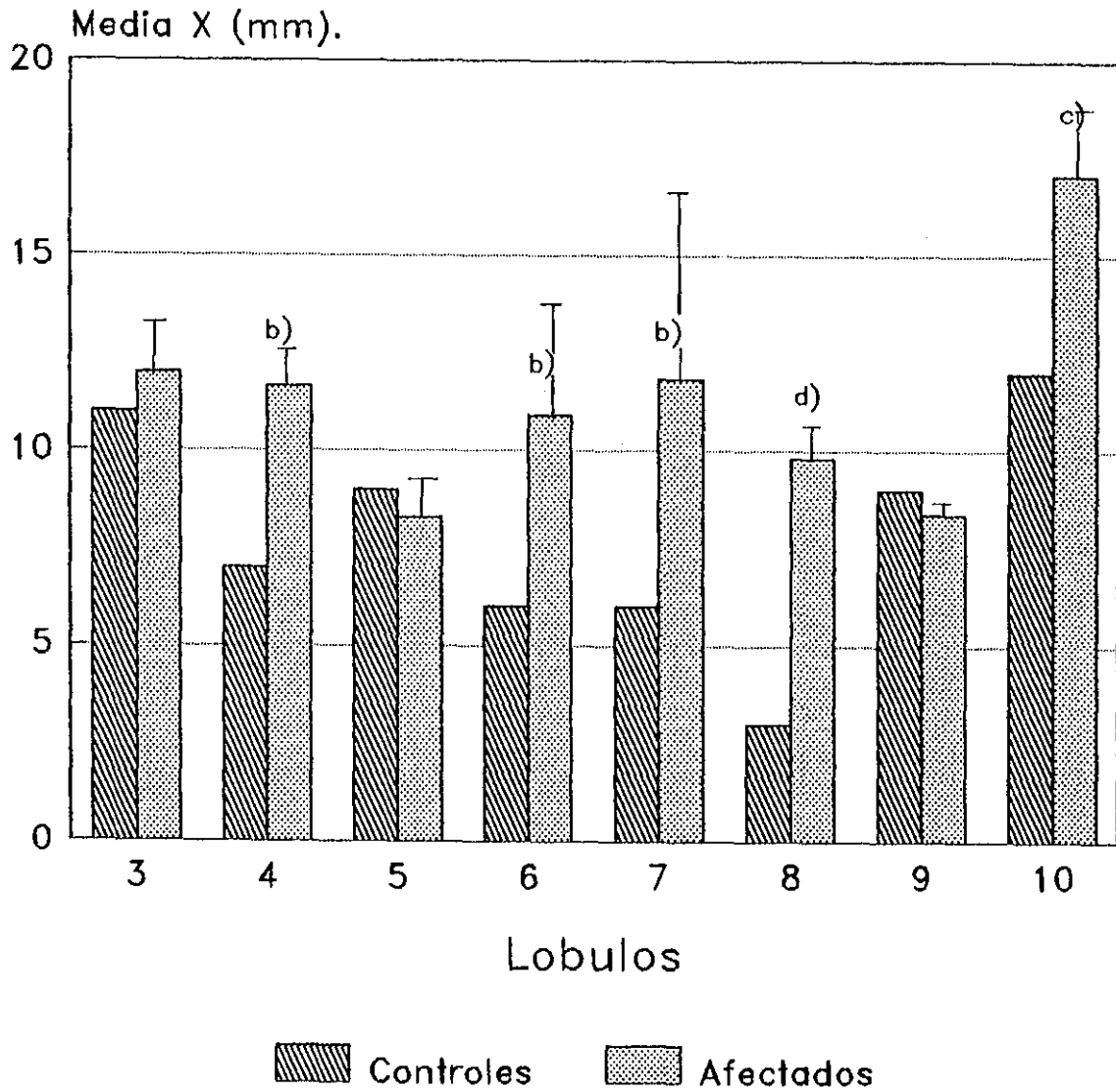
FIG 29



FIG 30

FIGURA 31.- La figura muestra el promedio del espesor de la capa granular interna encontrado en los lobulos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 en la corteza cerebelosa de la rata "MD" y sus respectivos testigos a los 23 días de edad. Observese que los lóbulos 4, 6, 7, 8 y 10 presentan un espesor significativamente mayor en las ratas "MD" con respecto a sus testigos. Los niveles de significancia se representan como: b)  $p < 0.02$ , c)  $p < 0.01$  y d)  $p < 0.001$ . En algunos de los lobulos no se grafico la desviación standar porque era demasiado pequeña o no se presentaba.

Figura 31  
Cresta



Espesor de la capa granular interna

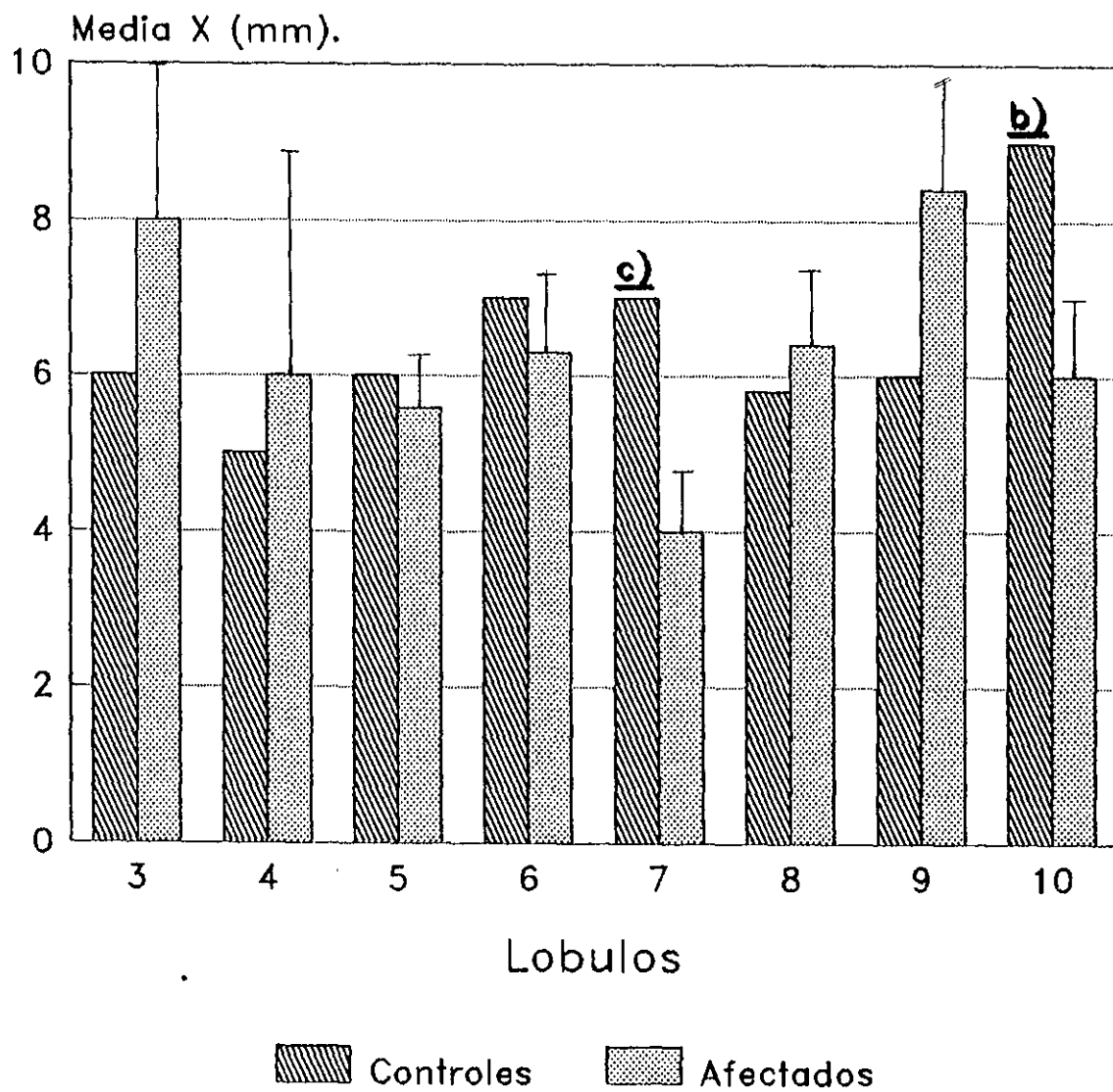
b)  $p < 0.02$ , c)  $p < 0.01$  y d)  $p < 0.001$ .

23 días.

FIGURA 32.- La figura muestra el promedio del espesor de la capa granular interna encontrado en los lóbulos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 en la corteza cerebelosa de las ratas "MD" de 23 días y sus respectivos testigos. Observese que los lóbulos 7 y 10 presentan un espesor significativamente menor en las ratas "MD" con una  $p < 0.02$  y una  $p < 0.01$  respectivamente. En algunos lobulos no se grafica la desviación standar porque es demasiado pequeña o no existe.



Figura. 32  
Tallo



Espesor de la Capa Granular Interna

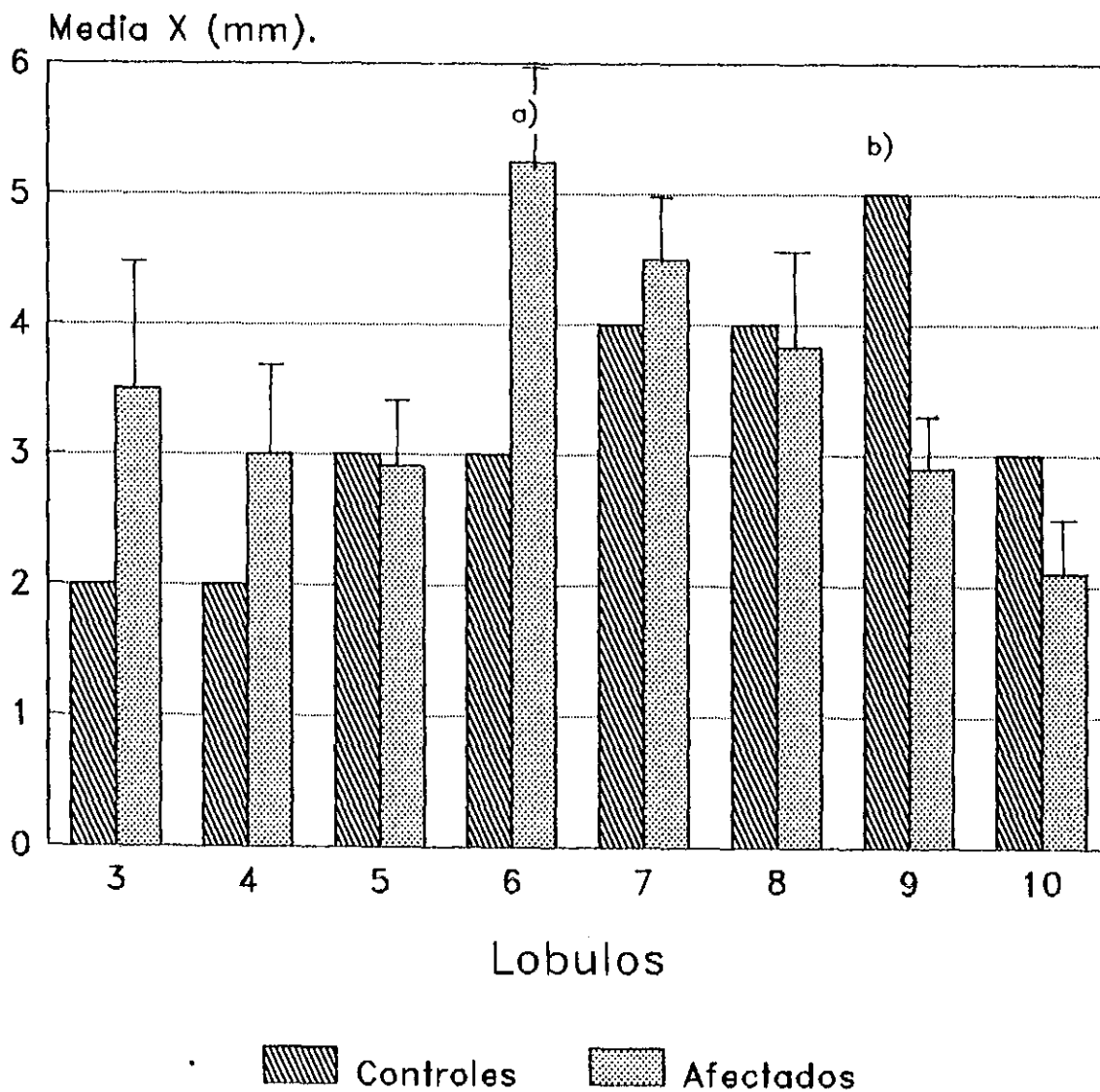
b)  $p < 0.02$  y c)  $p < 0.01$

23 dias.

FIGURA 33.- En la figura se muestra el valor promedio encontrado para el espesor de la capa granular interna en los lóbulos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 de la corteza cerebelosa (zona del valle) en la rata "MD" y sus respectivos testigos. Observese como el lobulo 6 presenta un espesor significativamente mayor en la rata "MD" con una  $p < 0.05$  y por el contrario el lobulo 9 es significativamente menor con una  $p < 0.02$  con respecto a su testigo. En algunos lobulos no se encuentra la desviación standar ya que esta era demasiado pequeña o no se presentaba.

# Figura. 33

## Valle



Espesor de la Capa Granular Interna.

a)  $p < 0.05$  y b)  $p < 0.02$   
23 días.

FIGURA 34.- La figura muestra el promedio del espesor de la capa molecular encontrado en los lóbulos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 en la corteza cerebelosa ( zona de la cresta ) de las ratas "MD" y sus respectivos testigos de 23 días de edad posnatal. Observe que el lóbulo 4 presenta un espesor significativamente menor en los animales afectados con una  $p < 0.05$ , mientras que los lóbulos 9 y 10 presentan un espesor significativamente mayor en los animales afectados con una  $p < 0.01$  y una  $p < 0.05$  respectivamente. En algunos lóbulos no se graficó la desviación standar por ser demasiado pequeña.

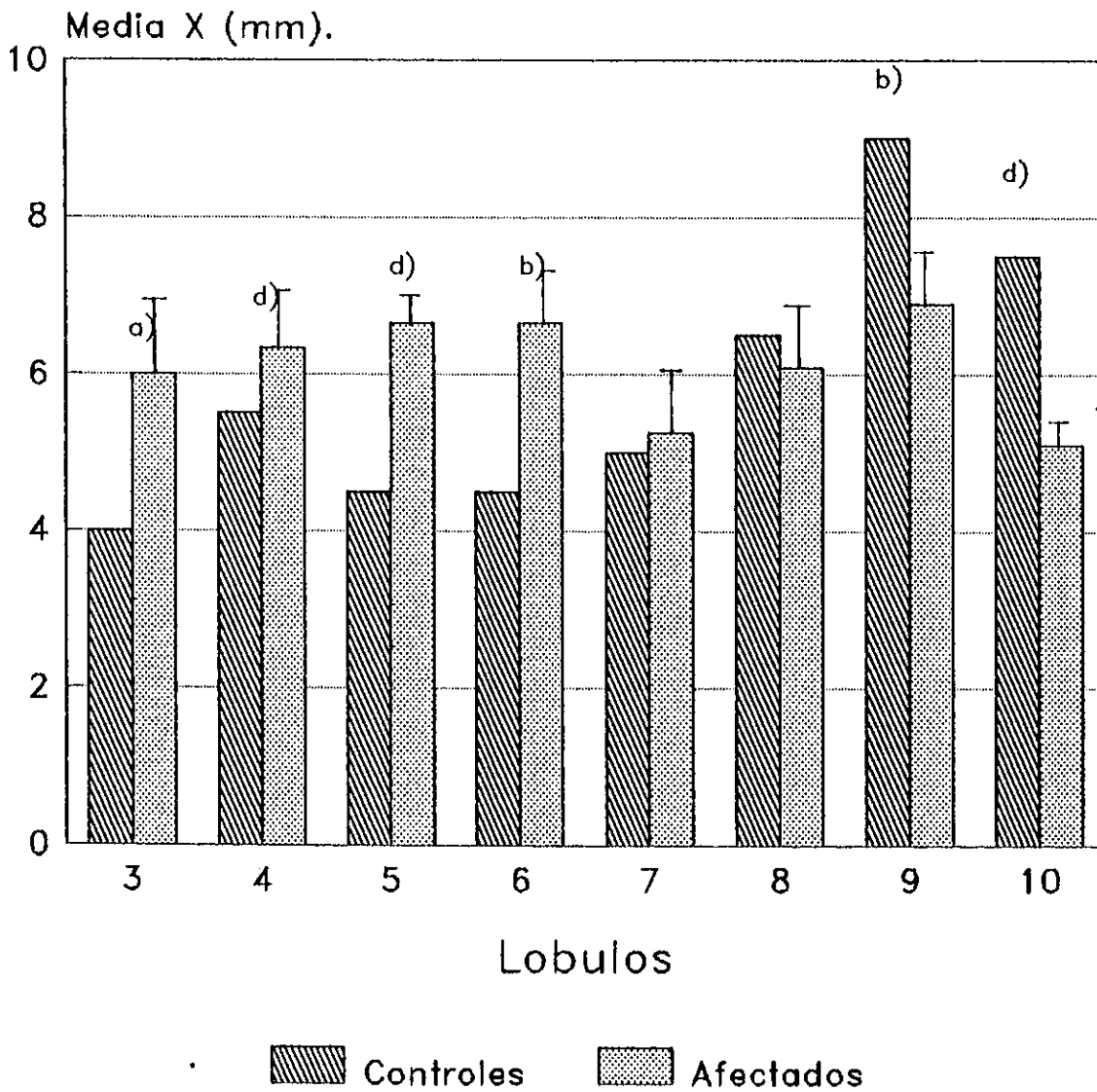




BIBLIOTECA CENTRAL

FIGURA 35.- La figura muestra el promedio del espesor de la capa molecular en los lóbulos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 de la corteza cerebelosa (zona del tallo), de las ratas "MD" y sus testigos. Note que los lóbulos 3 a 6 presentan un espesor significativamente mayor en la rata "MD" mientras que por el contrario los lóbulos 9 y 10 muestran un espesor significativamente menor en los animales afectados de 23 días. En algunos lóbulos no se graficó la desviación standar por ser demasiado pequeña.

Figura. 35  
Tallo

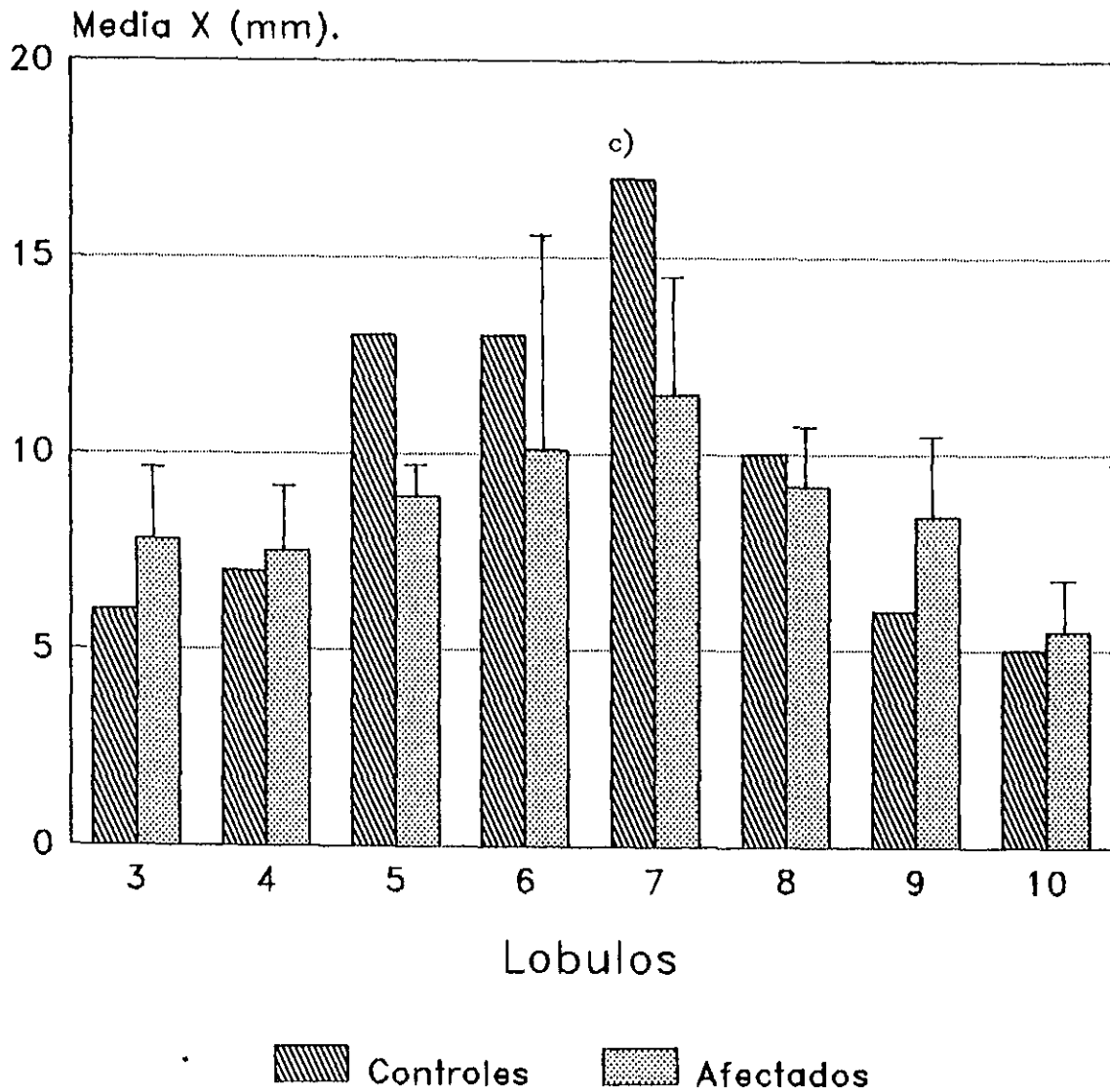


Espesor de la Capa Molecular  
a)  $p < 0.05$ , b)  $p < 0.02$  y d)  $p < 0.001$   
23 días.

FIGURA 36.- La figura muestra el promedio del espesor de la capa molecular en los lóbulos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 de la corteza cerebelosa (zona del valle), en las ratas "MD" y sus testigos de 23 días posnatales. Observe que el espesor de esta capa en el lobulo 7 es significativamente menor en las ratas "MD" con una  $p < 0.01$ . En algunos lóbulos no se encontro desviación standar o fue demasiado pequeña por lo que no se grafica.



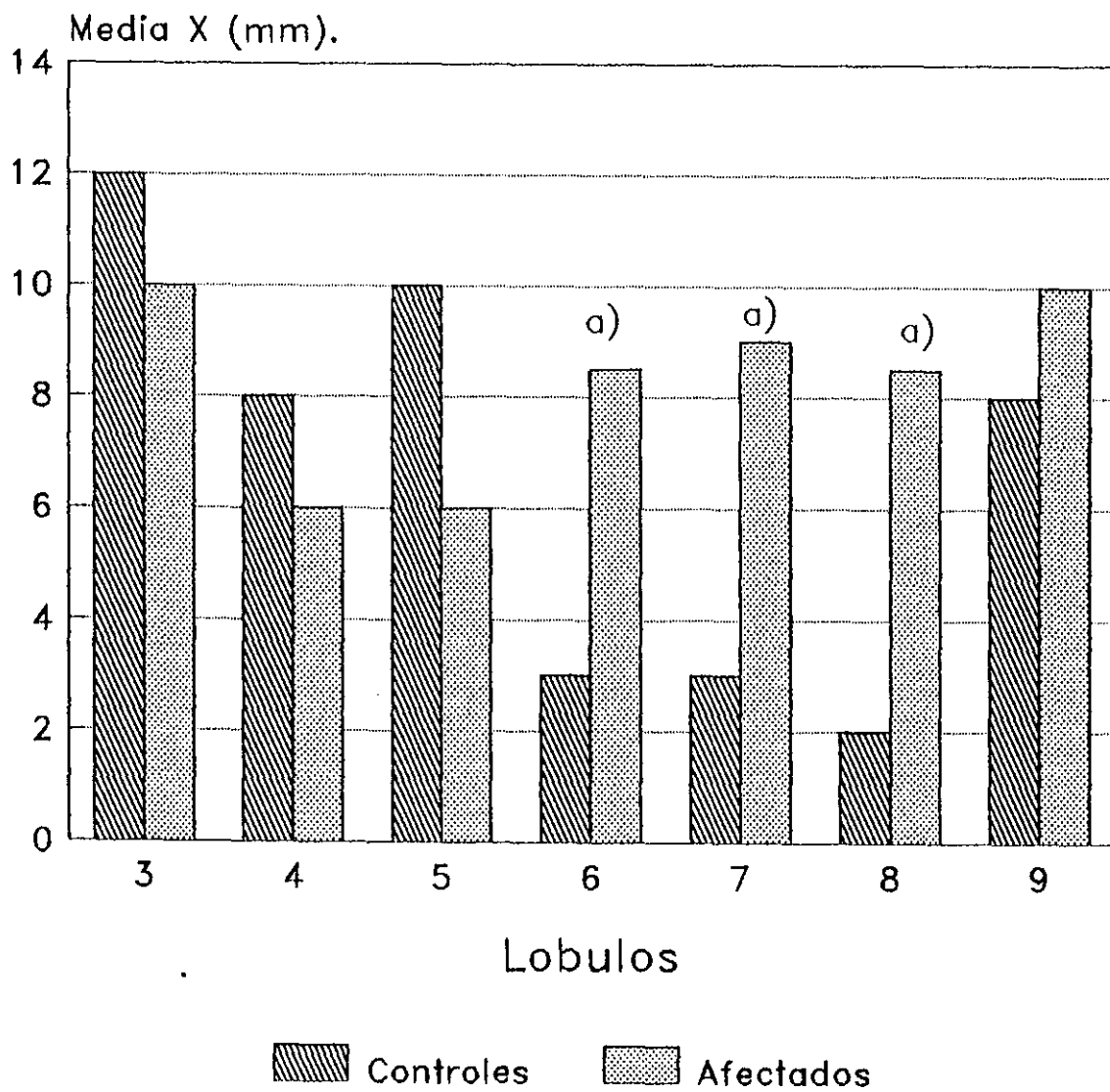
Figura. 36  
Valle



Espesor de la Capa Molecular  
c)  $p < 0.01$   
23 dias.

FIGURA 37.- La figura muestra el promedio del espesor de la capa granular interna en los lóbulos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 de la corteza cerebelosa (zona de la cresta) en las ratas "MD" y sus respectivos testigos de 25 días posnatales. Observe que en las ratas "MD" los lóbulos cerebelosos 6, 7 y 8 presentan un espesor significativamente mayor con una  $p < 0.05$ . En algunos lóbulos no se grafica la desviación standar por ser esta demasiado pequeña.

Figura 37  
Cresta



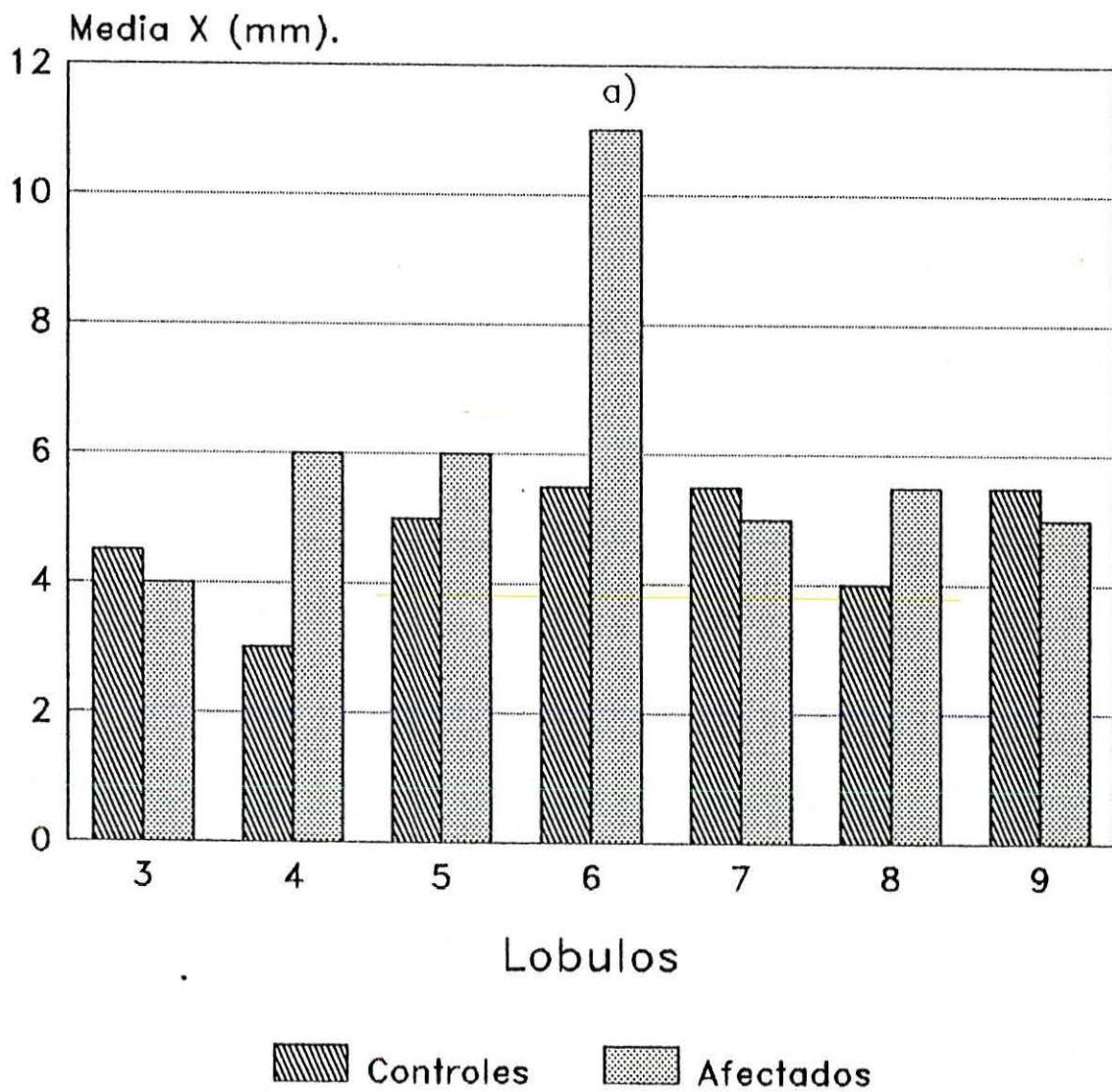
Espesor de la capa granular interna

a)  $p < 0.05$

25 dias.

FIGURA 38.- La figura muestra el promedio del espesor de la capa molecular encontrado en los lóbulos 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 de la corteza cerebelosa en las ratas "MD" y sus respectivos testigos. Observe que el lobulo 6 presenta un espesor significativamente mayor en dicha capa en las ratas "MD" con una  $p < 0.05$ , a los 25 días posnatales. Si en algunos lóbulos no se observa la desviación standar es porque esta es demasiado pequeña o no existe.

Figura 38  
Tallo

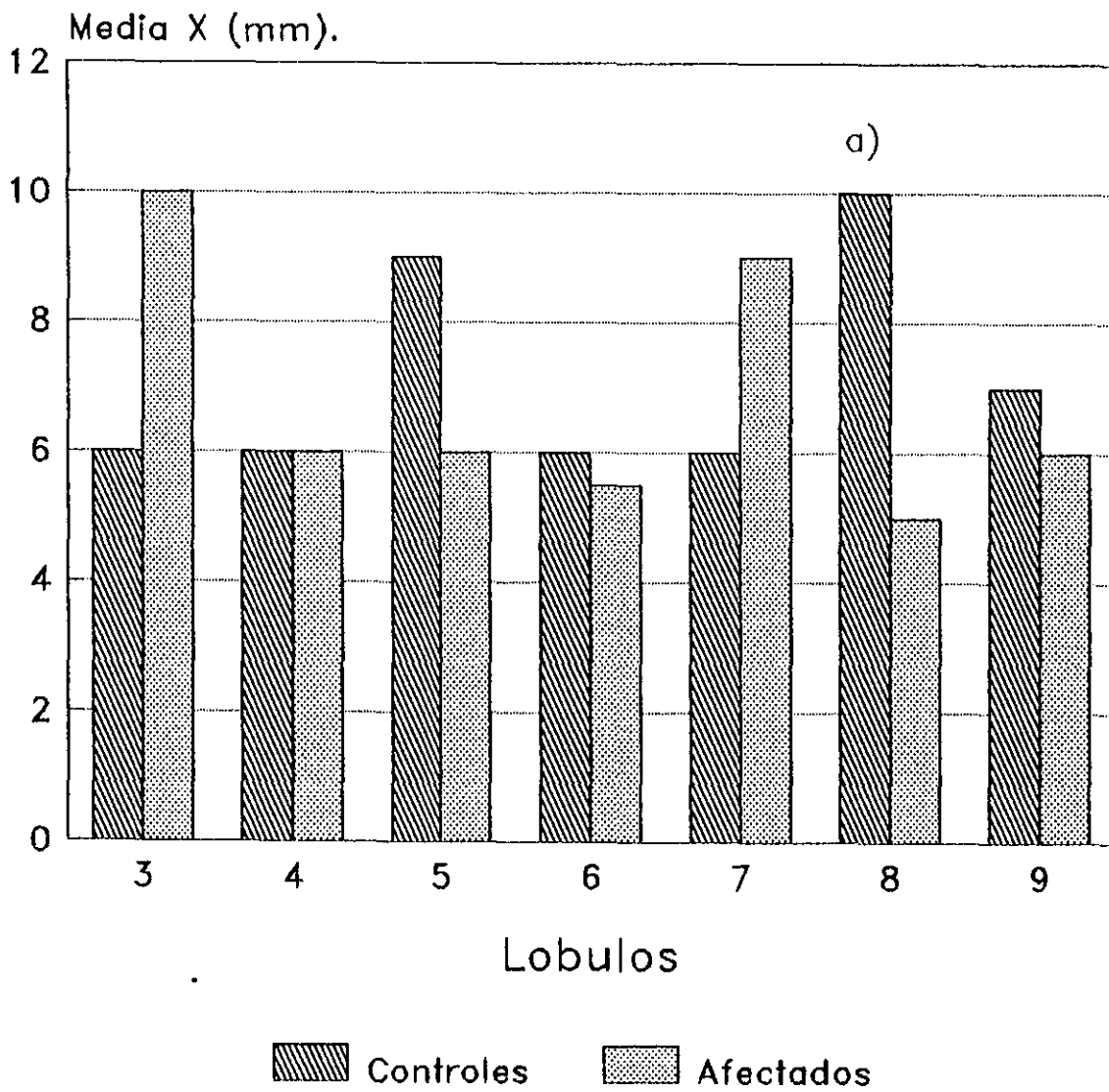


Espesor de la capa molecular  
a)  $p < 0.05$   
25 dias.

FIGURA 39.- La figura muestra el promedio del espesor de la capa molecular (zona del valle), en los lóbulos 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 de la corteza cerebelosa en las ratas "MD" y sus respectivos testigos de 25 días posnatales. Note que dicho espesor es significativamente menor en el lóbulo 8 de las ratas "MD" con una  $p < 0,05$ . Si en algunos lobulos no se observa la desviación estandar es porque esta es demasiado pequeña o no existe.

# Figura 39

## Valle



Espesor de la capa molecular

a)  $p < 0.05$

25 días.

FIGURA 40.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata Wistar normal de 19 días posnatales. Observe como las células de Purkinje forman una monocapa bien definida entre las capas molecular y granular interna.

FIGURA 41.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata "MD" de 19 días posnatales. Las células de Purkinje se encuentran desfasadas con respecto a su plano de ubicación, internándose tanto en la capa molecular como en la granular interna.



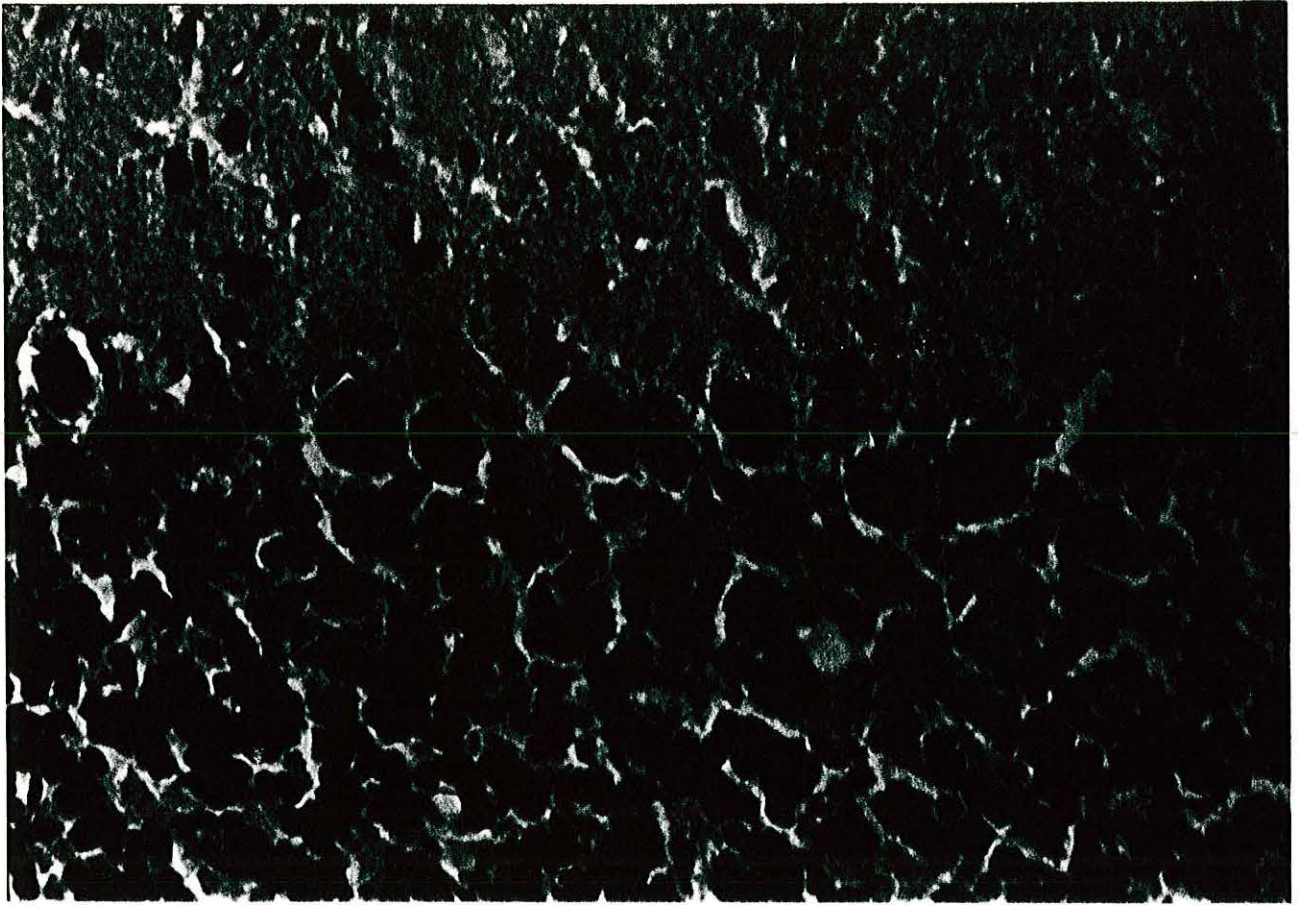


FIGURA 40.

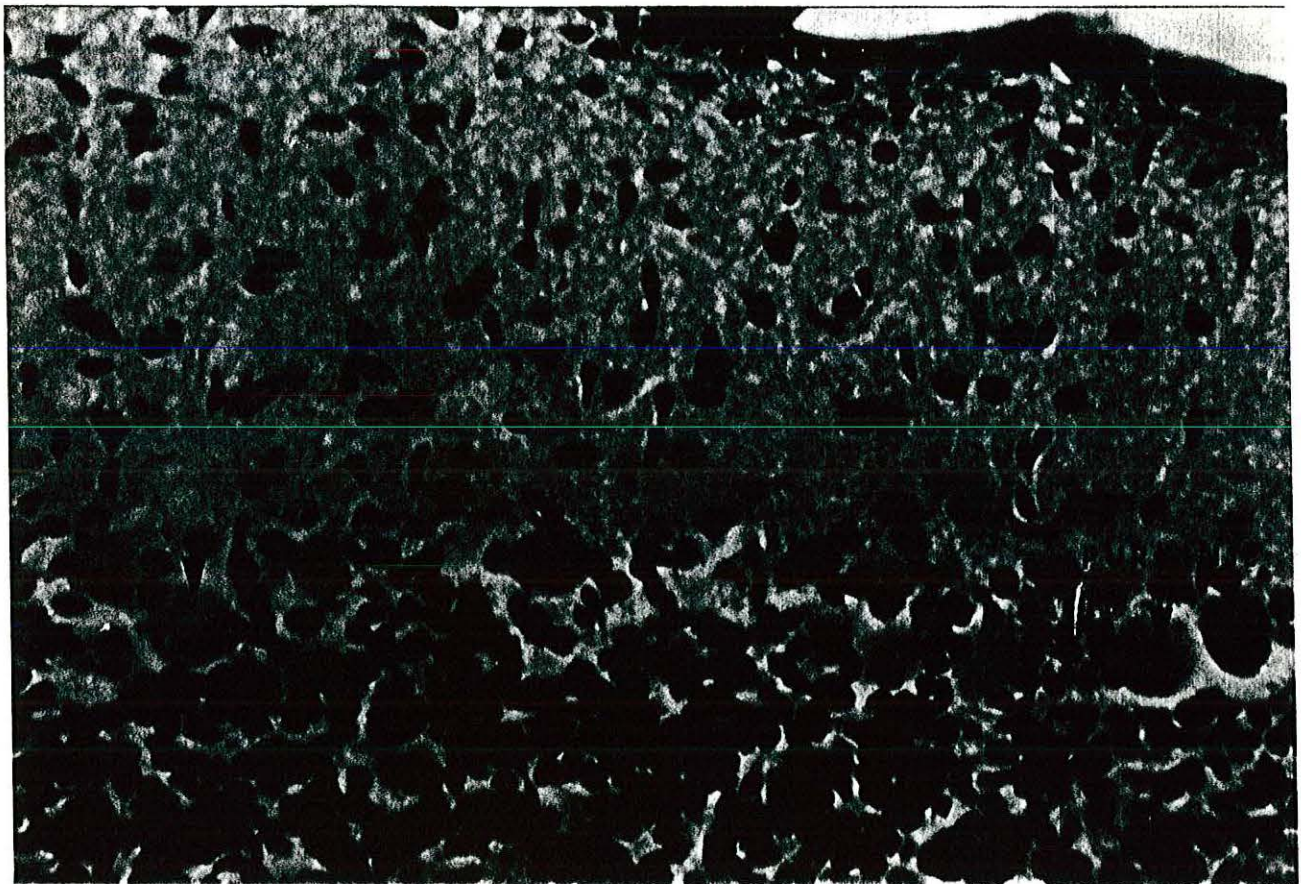


FIGURA 41

FIGURA 42.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata Wistar normal de 21 días. Las células de Purkinje se ubican perfectamente y forman una monocapa continua que divide a las capas molecular y granular interna.

FIGURA 43.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata "ND" de 21 días posnatales. Las células de Purkinje se superponen unas a otras y se adentran en la capa granular interna.



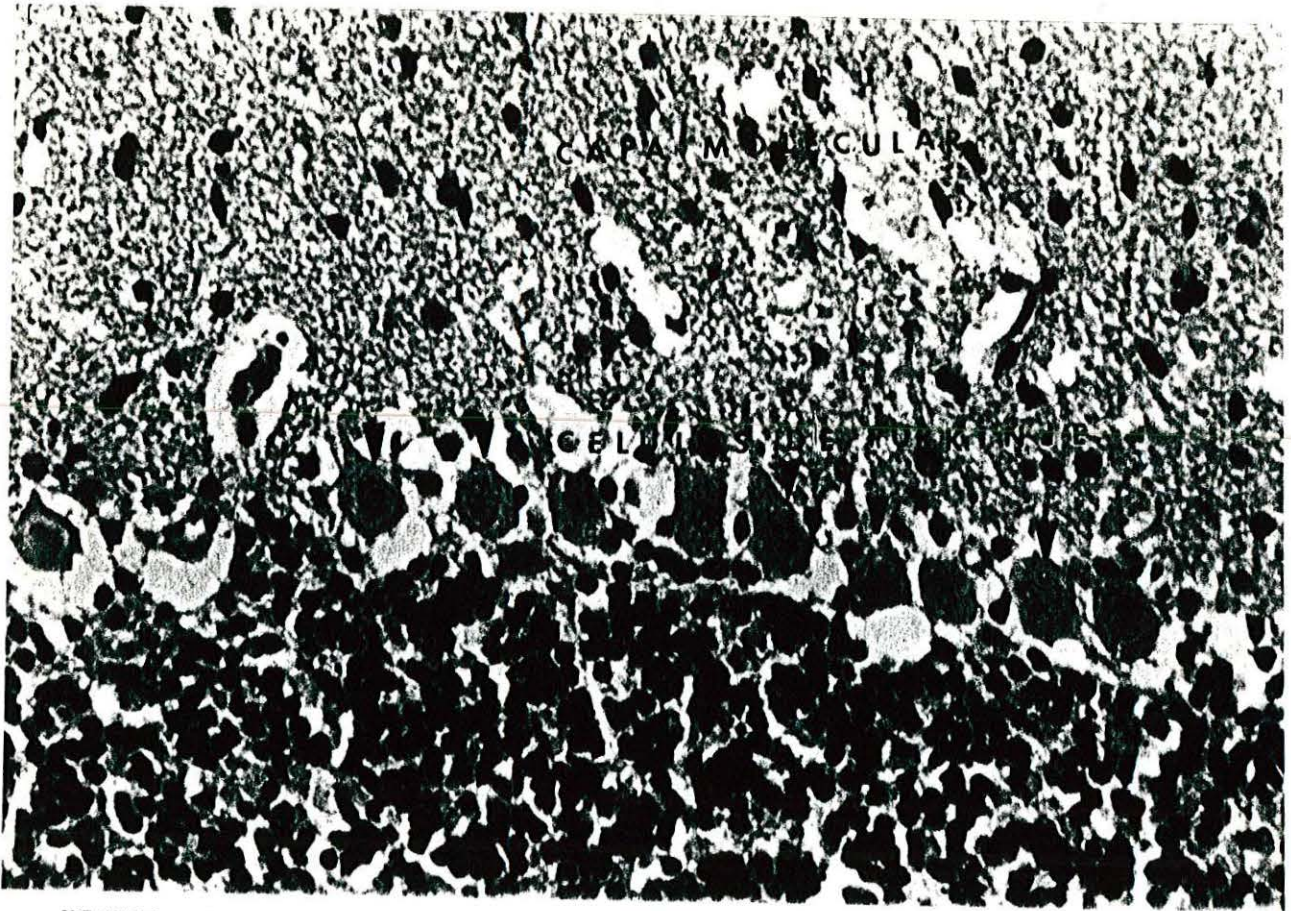


FIGURA 42.

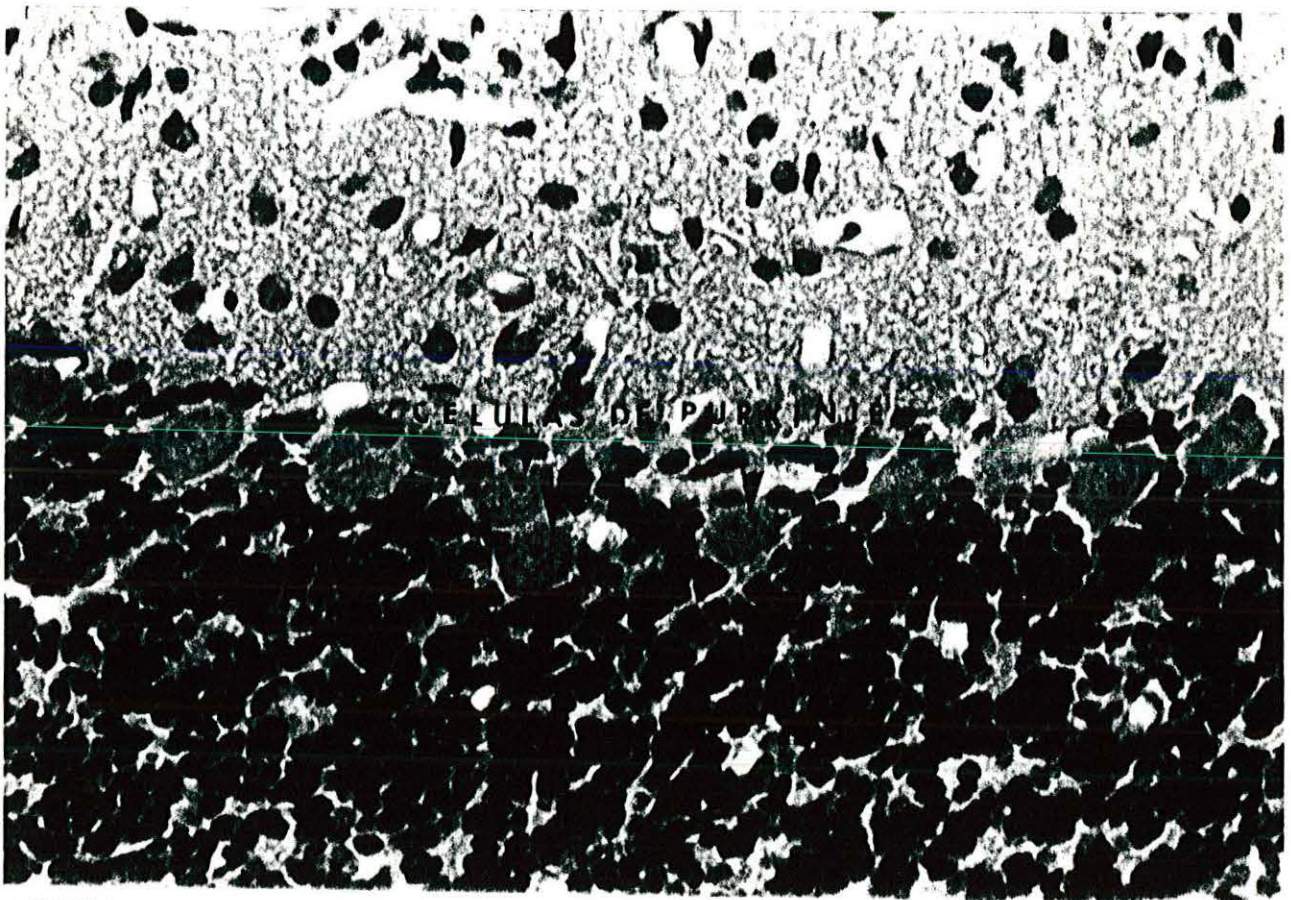


FIGURA 43.



FIGURA 44.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata Wistar normal de 23 días posnatales. las células de Purkinje se organizan de tal manera que establecen una monocapa continua que separa a las capas molecular y granular interna.

FIGURA 45.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata "MD" de 23 días posnatales. las células de purkinje se muestran desubicadas con respecto a su monocapa, puesto que algunas de estas se encuentran dentro de la capa granular interna.

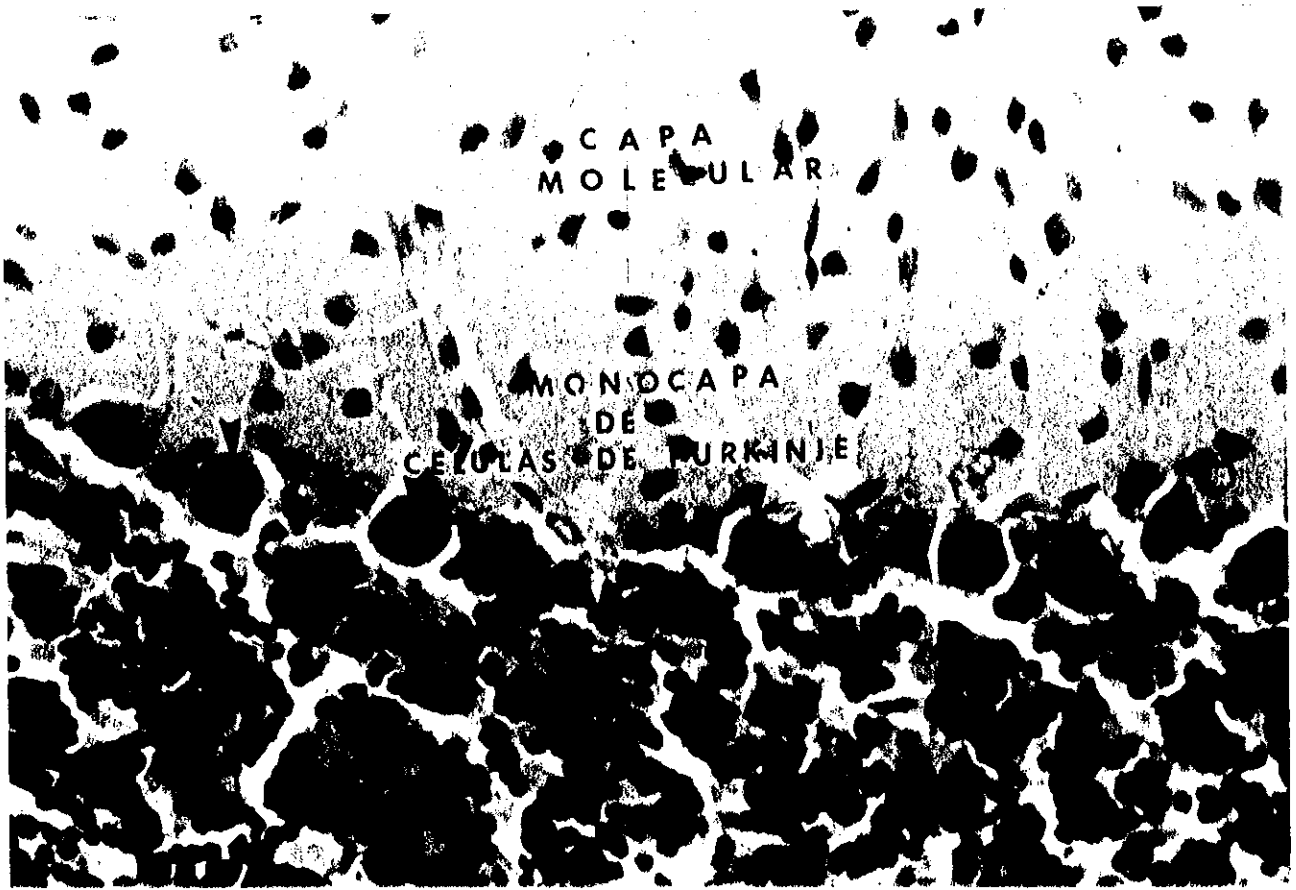


FIGURA 44.

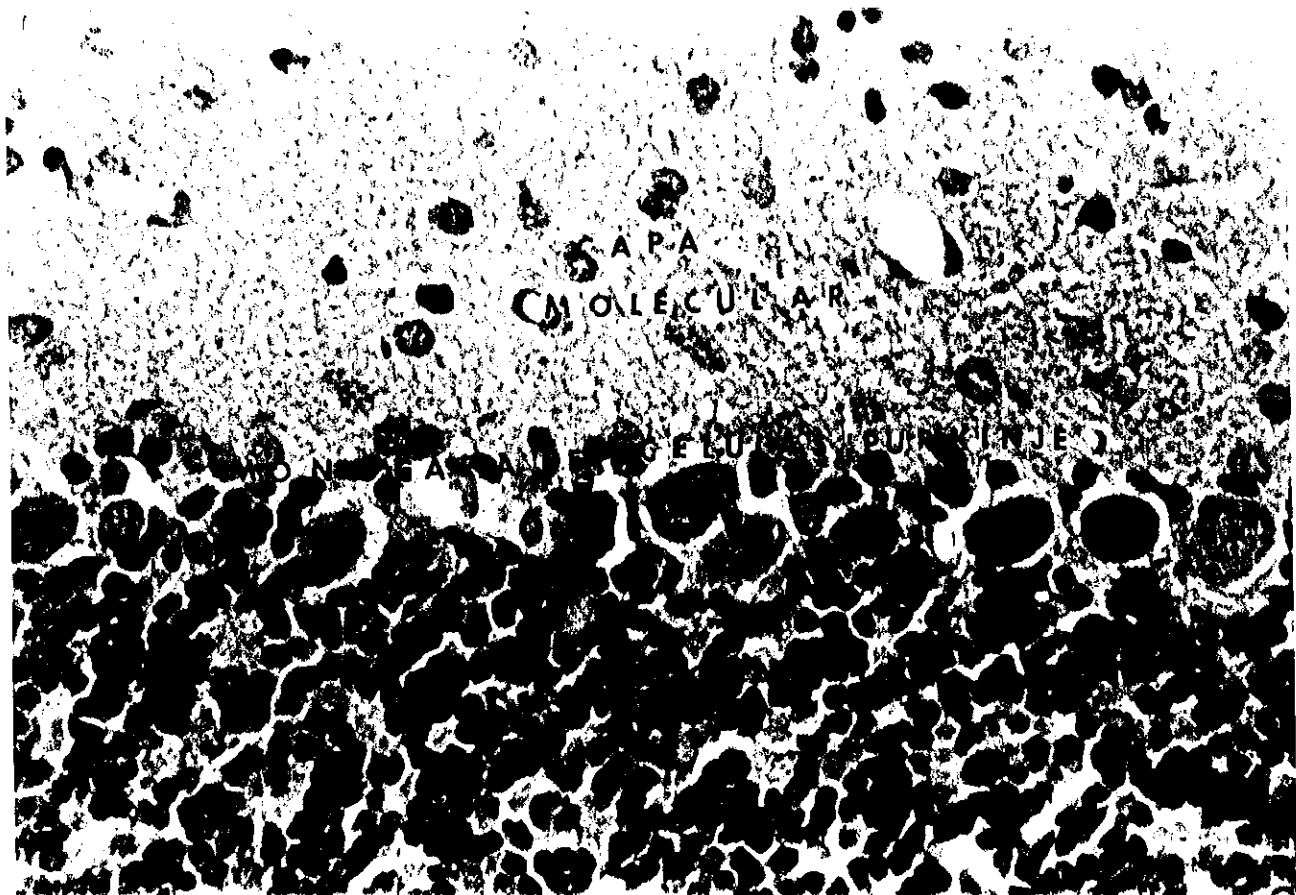


FIGURA 45.

FIGURA 46.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata Wistar normal de 25 días posnatales. Los somas de las células de Purkinje integran una monocapa continua que se ubica dentro de un mismo plano y separa a las capas molecular y granular interna.

FIGURA 47.- Microfotografía de un corte sagital a nivel de corteza cerebelosa de rata "MD" de 25 días posnatales. Los somas de las células de Purkinje se muestran desplazados internándose tanto en la capa molecular como en la granular interna, por lo que pierden totalmente su alineamiento normal.



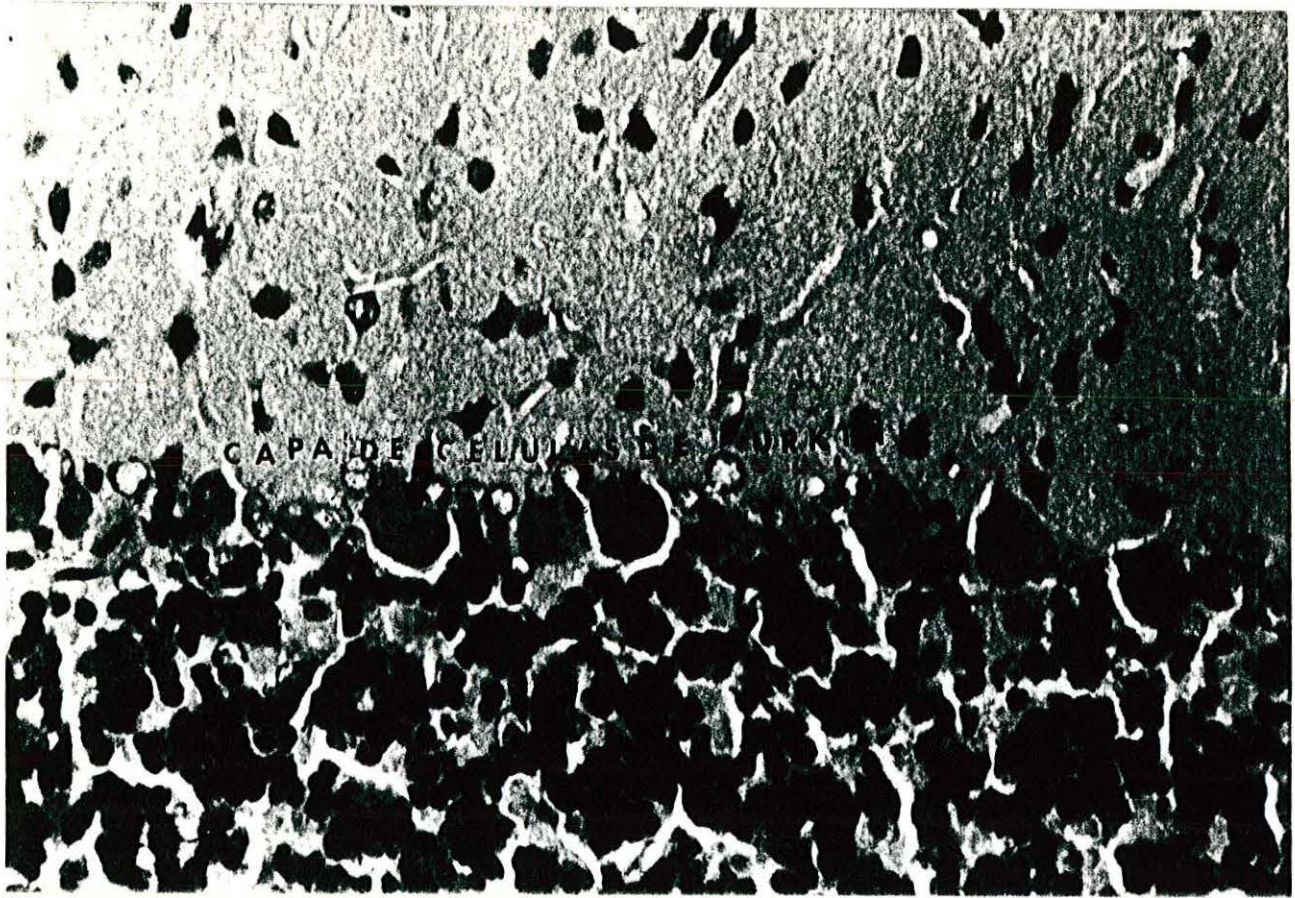


FIGURA 46.

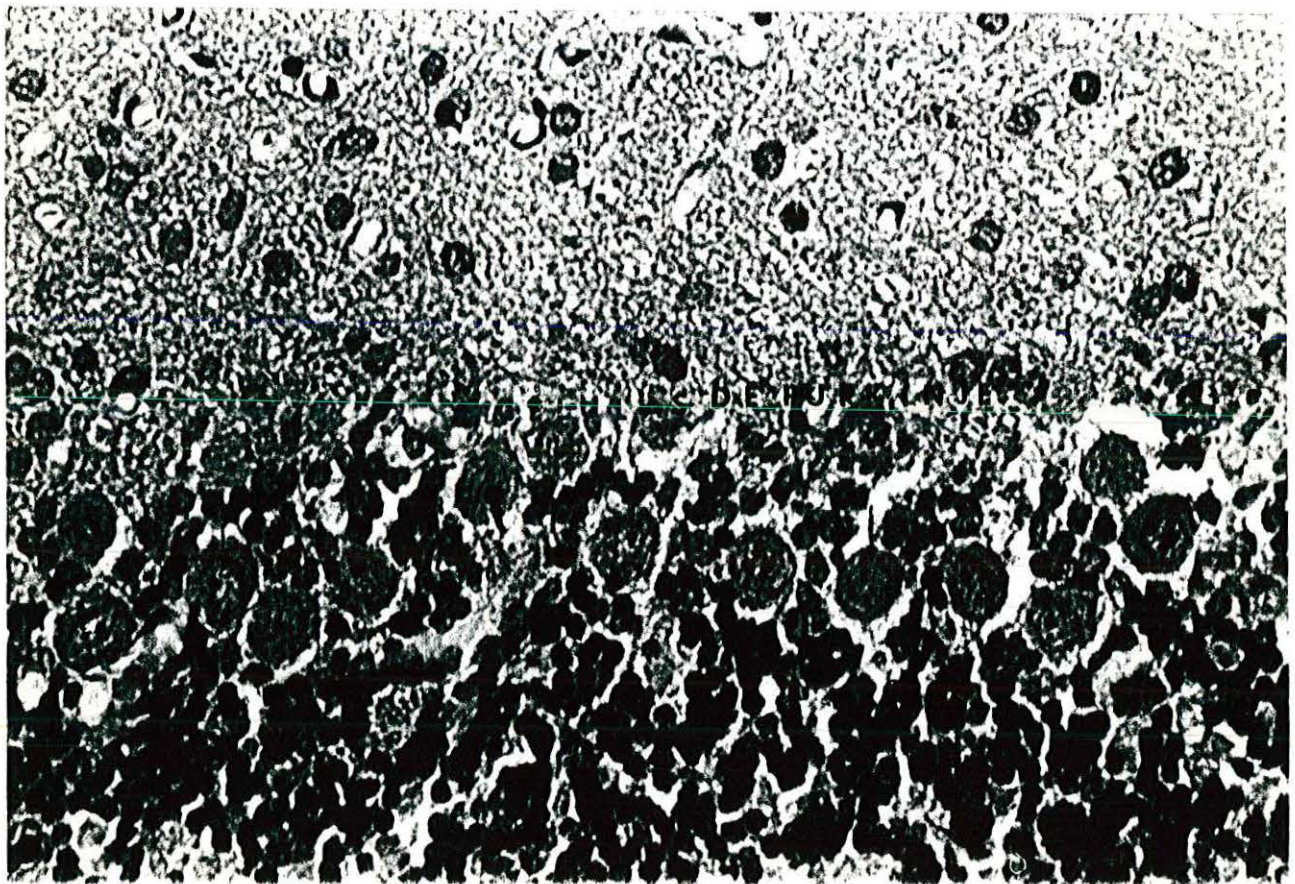


FIGURA 47.