



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

“Alteraciones funcionales en la corteza temporal de la rata con lesión neonatal del hipocampo ventral: Implicaciones en la esquizofrenia”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Ana Luisa Romero Pimentel

Director

Dr. Elías Manjarrez López

Co-director

Dr. Kurt Leroy Hoffman Tiber

Tlaxcala, Tlax.

Octubre, 2014



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

“Alteraciones funcionales en la corteza
Temporal de la rata con lesión neonatal del
hipocampo ventral: Implicaciones en la
esquizofrenia”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Ana Luisa Romero Pimentel

Comité Tutoral

Directores

Dr. Elías Manjarrez López
Dr. Kurt Leroy Hoffman Tiber

Tutores

Dr. Gonzalo Flores Alvarez
Dr. Ángel Ismael Melo Salazar
Dr. Rubén Antonio Vázquez Roque

Tlaxcala, Tlax.

Octubre, 2014

La presente tesis fue realizada en una colaboración interinstitucional entre el Laboratorio de Neurobiología y trastornos neuropsiquiátricos de la Universidad Autónoma de Tlaxcala dirigido por el Dr. Kurt Hoffman y los laboratorios de Neurofisiología integrativa y Neuropsiquiatría del Instituto de Fisiología de la BUAP, dirigidos por el Dr. Elías Manjarrez Dirigidos y por el Dr. Gonzalo Flores, respectivamente. Para el desarrollo de este proyecto se contó con el financiamiento de CONACyT No. 486265.



Agradecimientos....

Al posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

A los apoyos económicos recibidos por la beca Conacyt y por el posgrado en Ciencias Biológicas de la UATx.

A los miembros del comité tutorial que supervisaron este proyecto estrictamente, lo guiaron y me formaron como estudiante de investigación, Dr. Elías Manjarrez, Dr. Rubén Vázquez Roque, Dr. Gonzalo Flores, Dr. Kurt Hoffman, Dr. Ángel Melo y Dra. Dora Luz Quintanilla.

A mi familia Romero Pimentel, mamá, papá, hermanos, sobrinas, por apoyarme incondicionalmente en mis proyectos y enseñarme a trabajar con rectitud y valores, a esforzarme y nunca rendirme.

A mi familia Romero López, estoy segura que los abuelos y la tía desde el cielo nos sonríen.

A mi familia Pimentel Zapata, tías, tíos, primas, primos, especialmente a mis abuelos Aída y Luis por hacerme sentir orgullosa de tan unida familia, por todo lo que han cimentado en nosotros, por todo lo que hemos pasado y por lo fuerte que ahora somos.

A mis compañeros de laboratorio, gracias por sus consejos, por sus risas, por su apoyo y por tanta complicidad.

Dr. Oscar Diez Martínez, maestro mío, quien me motivo a continuar con mis estudios, a seguirme formando en este campo, excelente persona, ser humano, lo admiro profundamente.

Dr. Rubén Ibarra y Mtra. Dolores granados, formadores míos en la parte humana, he tomado tanto de ustedes, definitivamente sin su apoyo esta tesis no se hubiera logrado, tanto empuje, tanta sabiduría, tanta luz.

A mis amigos y amigas que son mi familia elegida (Fernanda Charles, Marcela Castillo, Adriana Figueroa, Manuel Alva, Araceli Sánchez y todas las Gaviotas, Mary Tere, Adriana Enríquez y especialmente a Alberto Dieguez).

Dedicatoria a la vida

*Sí a todo como es y a todo como son.
Gracias a todo como es y a todos como son.
Acepto Sacar provecho de mi vida,
A la vez acepto las desgracias.
Quiero a cada uno como es,
Incluso a los que me dan miedo, rabia o repulsión.
Desde mi lugar, ni más ni menos,
Respeto las jerarquías, honro lo que está antes que yo,
Honro la naturaleza, planta o animal, honro a mis mayores.
Me entrego a los posteriores, a los nuevos, a lo nuevo.
Empujada por el agradecimiento incondicional
A mis padres y a mi entorno,
Devuelvo lo recibido dando a los demás y pido lo que necesito.
Consciente de mi pequeñez y mis errores,
Vivo con alegría el momento presente.
Me abro a la vida.*

Resumen

El síndrome de esquizofrenia es un problema de salud pública que afecta al menos al 1% de la población mundial. Es un síndrome neurodegenerativo que afecta las funciones mentales superiores y el estado de ánimo, provocando una marcada disfunción social y laboral. El costo para la sociedad de esta enfermedad se estima en miles de millones de dólares. Dentro de las afectaciones anatómica cerebrales que se han observado en estos pacientes son reducciones en los lóbulos temporales, disminución en el número de neuronas que las conforman, alteración en la actividad eléctrica, lo cual se traduce en síntomas como alteraciones en la producción y comprensión lingüística, alucinaciones auditivas tales como susurros, zumbidos o golpeteo y problemas en el procesamiento de información auditiva.

Los modelos animales para el estudio de trastornos psiquiátricos son de gran importancia ya que a través de estos se puede estudiar las bases neurobiológicas subyacentes a los síntomas reportados por los pacientes. El modelo animal de neurodesarrollo de esquizofrenia más caracterizado hasta el momento es el de la lesión neonatal del hipocampo ventral (LnHV). Esta lesión induce en la rata una serie de cambios conductuales, moleculares, fisiológicos y electrofisiológicos, semejantes a los observados en pacientes con trastorno esquizofrénico. Existen escasos estudios sobre la fisiopatología del daño en la corteza temporal causado por la esquizofrenia, por lo que la presente tesis tuvo como objetivo determinar las alteraciones en la corteza temporal de la rata adulta causadas por la lesión neonatal de hipocampo ventral y sus implicaciones en la esquizofrenia.

A través de dos grupos, uno control (lesión falsa) y el grupo experimental (LnHV), se obtuvo potenciales provocados auditivos al estimular biauralmente la vía auditiva de las ratas con clics a diferentes niveles de intensidad (70, 80, 90, 100, 110, 115 y 120 Db). Además, a través de la técnica de estereología se estimó la densidad de neuronas y células gliales de la corteza temporal primaria y secundaria.

Encontramos que las ratas con LnHV exhiben una disminución significativa en la amplitud de los potenciales provocados auditivo, una reducción en el número de neuronas

que conforman la región estudiada y un aumento en las células gliales. Nuestros resultados sugieren que la LnHV provoca una inapropiada inervación de la vía talámico cortical, provocando una alteración en la funcional en las vías corticales que procesan la información auditiva. Además nuestros resultados sugieren una correlación significativa entre la disminución del potencial provocado auditivo y la disminución de las neuronas que conforman el lóbulo temporal de la rata con LNHV. Estos resultados son consistentes a lo observado con humanos, y arrojan información novedosa sobre la implicación neuroanatomía de los lóbulos temporales de esta enfermedad.

ÍNDICE

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
ESQUIZOFRENIA.....	1
1.2 Fenomenología y Cuadro clínico.....	1
1.3 Factores predisponentes para la esquizofrenia	2
1.4 Alteraciones en sistemas de neurotransmisión	4
1.5 Hipótesis de desconectividad cortical	6
1.6 Neuroanatomía patológica	7
1.7 Sistema límbico e hipocampo.....	8
1.8 Alteraciones en Corteza Temporal.....	10
2.MODELOS ANIMALES EN EL ESTUDIO DE TRASTORNOS PSIQUIÁTRICOS.....	13
2.1 Modelo de lesión neonatal de hipocampo ventral.....	14
2.2. Estudios de electroencefalografía en pacientes con esquizofrenia y en el modelo de lesión neonatal de hipocampo ventral.....	17
2.2.1 Potenciales Provocados	20
2.2.2 Potencial Provocado Auditivo (PPA).....	21
2.3 Estudios de estereología en pacientes con esquizofrenia y en el modelo de lesión neonatal de hipocampo ventral.....	25
2.6 Estudios morfológica neuronal en rata con lesión neonatal de hipocampo ventral....	26
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
4. HIPÓTESIS.....	30
5. OBJETIVO GENERAL.....	30
5.1 Objetivos particulares	30
6. DIAGRAMA DE TRABAJO.....	31
7. METODOLOGÍA.....	32
7.1 Sujetos de experimentación	32
7.2 Procedimientos generales	32
7.2.1 Cirugía estereotáxica neonatal de hipocampo ventral DP 7.....	32
7.2.2 Actividad exploratoria ante ambiente novedoso en campo cerrado.....	33
7.2.3 Registro electrocorticográfico.....	34

7.2.3.1 Preparación del animal	34
7.2.3.2 Método de registro.....	35
7.2.3.3 Protocolo de estimulación auditiva.....	35
7.3 Análisis de Resultados del PPA.....	36
7.4 Análisis histológico (Tinción de Nissil).....	36
7.5 Análisis de Estereología	37
7.6 Análisis de Sholl.....	37
8. RESULTADOS	38
8.1 Actividad exploratoria	38
8.2 Localización de los potenciales provocados auditivos.....	39
8.3 Curva Entrada-Salida del PPA ante diferentes intensidades de estimulación auditiva.....	42
8.4 Comparación de las curvas entrada-salida de la amplitud máxima para el grupo de ratas con LnHv y Sham.....	44
8.5 Comparación de la latencia del PPA	45
8.6 Análisis de densidad neuronal y glial por estereología	46
8.7 Análisis de correlación entre el número de células de la corteza temporal y la amplitud máxima del potencial provocado auditivo para ratas con LnHv y ratas con lesión falsa.....	49
8.8 Análisis morfológico de Sholl.....	50
8.9 Verificación de la lesión.....	53
10. DISCUSIÓN.....	54
11. CONCLUSIONES.....	60
12. PERSPECTIVAS	60
13. REFERENCIAS	62
14. PUBLICACIONES.....	71

1. Introducción.

1.1. Esquizofrenia.

El síndrome de esquizofrenia se ha convertido en un problema de salud pública ya que afecta al 1% de la población mundial. En México se estima que aproximadamente existen 700 mil pacientes con esta condición (Frenk y cols., 2002). Es un síndrome neurodegenerativo, definido como “la disociación de los procesos del pensamiento y la ruptura entre pensamiento, emoción y comportamiento” (Silva-Gómez, 1998). Estos signos y síntomas están asociados a una marcada disfunción social o laboral. Debido a que la etiología y fisiopatología de este síndrome son aún desconocidas, esta es una enfermedad de mayor interés científico, donde se ha intentado esclarecer el funcionamiento del cerebro de estos pacientes.

1.2 Fenomenología y Cuadro Clínico.

Los síntomas característicos de esta enfermedad han sido conceptualizados en tres principales categorías: psicóticos o “positivos”, déficit o “negativos” y de discapacidad cognitiva o “cognitivos” (Tabla 1). Estos se presentan en la adolescencia o la adultez temprana. Los síntomas son conceptualizados de esta forma de acuerdo a los efectos que provoca la dopamina en el sistema nervioso central. Específicamente, los síntomas positivos incluyen a las alucinaciones, *delusiones* y a el pensamiento desorganizado. Estos se encuentra fuertemente relacionado a una hiperactividad de las proyecciones subcorticales mesolímbicas de la dopamina. Los síntomas negativos tienen que ver con diversos déficits en la afectividad tal como; el aplanamiento, la apatía, el lenguaje pobre, la anhedonia y el aislamiento. Estas conductas se encuentran asociadas a una hipoactividad dopaminérgica de las proyecciones mesocorticales a la corteza prefrontal, resultando una hipoestimulación de los receptores D1, provocando además de los síntomas negativos, síntomas cognitivos (Skrabalo, 1999). Estos últimos tienen que ver con déficits en la atención y memoria (Pycock y cols., 1980).

Además se ha probado que los pacientes con esquizofrenia presentan hiperactividad colinérgica, responsable en parte de los síntomas negativos, mientras que la hipoactividad colinérgica es considerada como parte de la fisiopatología de los síntomas positivos de la esquizofrenia. Estas desregulaciones producen un predominio de la actividad dopaminérgica por encima de la actividad colinérgica (Tracy y Moncaco, 2001), lo que provoca las alteraciones cognitivas y afectivas antes mencionadas.

Clasificación	Síntoma
Síntoma Positivo	<ul style="list-style-type: none"> • Ideas delirantes • Alucinaciones • Lenguaje desorganizado • Comportamiento gravemente desorganizado
Síntomas negativos	<ul style="list-style-type: none"> • Aplanamiento afectivo • Alogia • Abulia • Perdida de motivación
Déficits cognitivos	<ul style="list-style-type: none"> • Problemas de atención • Problemas de memoria • Dificultad para concentrarse

Tabla 1. Clasificación de síntomas característicos de la esquizofrenia (Tomado de Lewis, 2000).

1.3 Factores predisponentes de la esquizofrenia.

Si bien no se sabe la causa de esta enfermedad, se ha propuesto un origen multifactorial que afecta a los procesos de neurodesarrollo. Tales como; factores de tipo biológico (genético), bioquímicos, psicológicos y ambientales.

A) Factores genéticos.

Cabe mencionar que la expresión genética de este síndrome está estrechamente relacionada con factores ambientales. En análisis humanos post-mortem se han atribuido al menos 25 genes en la expresión de esta patología, principalmente genes involucrados en la plasticidad sináptica, desarrollo neuronal, neurotransmisión y transducción de señales que son alterados en los niveles de expresión (Choy Wong y Van Tol, 2003).

B) Factores ambientales.

Cannon y cols., (2002) demostraron que algunas complicaciones obstétricas están relacionadas con la manifestación de la esquizofrenia. Por ejemplo: complicaciones durante el embarazo, el desarrollo fetal y complicaciones en el parto. Así mismo, se ha demostrado una estrecha relación entre la hipoxia fetal y la poda sináptica prematura lo que ocasiona anomalías estructurales del cerebro en los pacientes con ataques esquizofrénicos tempranos (Rosso y cols., 2000). La hipoxia y la isquemia en bebés prematuros puede causar hemorragias intra y periventriculares con consecuencias a largo plazo en el alargamiento ventricular, disminuyendo el volumen del hipocampo y alterando el cuerpo calloso (Van Erp y cols., 2002).

c) Factores psicológicos.

Tiene que ver con aquellas experiencias psicológicas que afectan procesos de neurodesarrollo en los últimos estados del modelado cerebral. Tales como; traumas emocionales infantiles, abuso infantil, exposición a estrés crónico infantil, violencia, discriminación por edad, sexo, apariencia, orientación sexual, discapacidad, entre otros. Diversos estudios han demostrado que estos eventos afectan el funcionamiento del eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) (Ver Tarullo y Grunnar 2006, De Bellis y cols., 1994 para revisión). Este eje es el encargado de mediar respuesta fisiológica al estrés psicológico percibido, el eje HPA puede desencadenar una cascada de eventos que resultan en la disfunción de circuitos neuronales, tales como la señalización de la dopamina (Walker y Diforio, 1997). Las hormonas liberadas por el estrés, especialmente el cortisol, provocan efectos plásticos sobre el cerebro y el comportamiento. Esta evidencia sugiere que la secreción de glucocorticoides pueden aumentar la actividad de la dopamina en ciertas

regiones del cerebro, en particular, del sistema mesolímbico (Ver Van Winkel y cols., 2009, para revisión).

1.4 Alteraciones en sistemas de neurotransmisión.

Existen dos grandes hipótesis relacionadas a las alteraciones neuroquímicas de la esquizofrenia. La hipótesis dopaminérgica, la cual señala que los síntomas positivos de la esquizofrenia son derivados de una sobreactividad de este neurotransmisor, específicamente de las proyecciones mesencefálicas hacia el estriado límbico. Este puede surgir debido al exceso de dopamina o a una elevada sensibilidad de los receptores. La hipótesis es sustentada con el descubrimiento de que los fármacos antipsicóticos son efectivos a antagonistas de receptores D₂ y a fármacos que liberan dopamina (Roberts y cols., 1997). Además, agonistas de dopamina indirectos como la L-dopa, cocaína y anfetamina, pueden inducir psicosis en sujetos sanos y, a muy bajas dosis, provocan síntomas psicóticos en esquizofrénicos.

En la hipótesis glutamatérgica, este trastorno tiene su etiología al presentarse una hipoactividad en la neurotransmisión glutamatérgica. El glutamato es el neurotransmisor usado en la mayoría de las sinapsis excitadoras del sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos. Este en edades tempranas participa en la formación del sistema nervioso, maduración neuronal, en la formación y eliminación de sinapsis y en la formación de patrones precisos de conectividad sináptica. En estudios post-mortem de pacientes esquizofrénicos se ha encontrado una deficiencia en el transportador de glutamato y decremento en receptores NMDA (Hirsch y cols., 1997). Además, se observado que algunos anestésicos disociativos como la feniclidina (PCP) y la ketamina (antagonistas a receptores tipo NMDA) pueden causar síntomas psicóticos en humanos sanos y los exacerban en personas con esquizofrenia. La hipofunción de NMDA en vías de asociación cortical podría ser responsable de varios síntomas negativos y otros cognitivos.

Si bien a lo largo del tiempo estas dos hipótesis han sido bien aceptadas y documentadas, se ha sumado evidencia de alteraciones en otros tipos de sistemas de neurotransmisión tales

como el sistema gabaérgico. En el cerebro de estos pacientes se ha detectado una disminución de la liberación y recaptura de GABA, de la densidad del transportador de GABA y de los niveles de la enzima ácido glutámico descarboxilasa, específicamente en la corteza prefrontal (Guidotti y cols., 2000). Cabe mencionar que en periodos gestacionales la reelina es secretada por interneuronas GABAérgicas corticales y esta proteína es crucial para procesos de migración neuronal y posicionamiento en el desarrollo cerebral. Provocando así alteraciones neurofuncionales y neuroanatómicas.

En la Tabla 2 se muestra un resumen de los principales cambios encontrados en los sistemas de neurotransmisión de los pacientes con esquizofrenia.

Neurotransmisor	Alteración	Fenómeno
Dopamina	Aumento	Receptores estriatales D2
	Aumento	Contenido y metabolismo de la dopamina
	Aumento	Transmisión dopaminérgica estimulada por amfetamina
	Disminución	Receptores D1 corticales
	Aumento	Receptores D3 corticales
	Aumento	Receptores D4
Glutamato	Disminución	Expresión de receptores no-NMDA en la corteza temporal y en hipocampo
	Aumento	Expresión cortical de algunas subunidades del receptor NMDA
	Aumento	Recaptura de glutamato en corteza frontal
	Disminución	Liberación de glutamato cortical
		Concentración alterada de glutamato y sus metabolitos
Serotonina	Disminución	Receptores corticales 5-HT2A

	Aumento	Recetores corticales 5-HT1A
		Concentraciones de 5-HIAA en líquido cefalorraquídeo asociadas a síntomas negativos
GABA	Disminución	Liberación y recaptura de GABA
	Disminución	Niveles de la enzima ácido glutámico decarboxilasa y GAD67
	Aumento	Subunidad alfa receptor GABA-A

Tabla 2. Cambios encontrados en el sistema de neurotransmisores del cerebro de pacientes con esquizofrenia (modificado de Miyamoto y cols., 2003)

1.5 Hipótesis de desconectividad cortical.

La mayoría de las investigaciones de la fisiopatología de la esquizofrenia se centran al sistema límbico, debido a la fuerte relación de este y la expresión de los síntomas de esta enfermedad, sin embargo, se han propuesto cuatro hipótesis para describir el origen de la esquizofrenia, donde se involucra a otros circuitos como lo son la corteza cerebral (Andreasen, 2000).

La primera hipótesis considera la etiología de esta como multifactorial, por lo que se sugiere que se relaciona con los procesos de maduración y desarrollo cerebral, dichos procesos ocurren en el humano hacia el segundo trimestre de gestación y hasta la etapa de adulto joven. La edad a la que normalmente se presentan los síntomas de la esquizofrenia es desde la pubertad y hasta los 28 años que corresponde a la etapa en la cual se alcanza la madurez cerebral. De aquí se deriva la segunda hipótesis la cual señala que la etiología de la esquizofrenia involucra el proceso del neurodesarrollo en los últimos estados del modelado cerebral y este proceso se da de manera dependiente de la actividad de los circuitos neuronales, por ejemplo por las experiencias psicológicas que afectan la plasticidad cerebral (Andreasen, 1997). Las anomalías en el sistema nervioso central (SNC) que se han identificado en la esquizofrenia con técnicas que van desde la neuropatología hasta la neuroimagen han incluido un amplio número de regiones del SNC entre las que se encuentran: la corteza frontal, la corteza temporal, el tálamo, el hipocampo, amígdala, ganglios basales y hasta el cerebelo. Lo anterior indica que la etiología de esta

enfermedad no está circunscrita a una sola región cerebral dando lugar a la tercera hipótesis que considera su origen en el desarrollo de las conexiones neuronales.

Específicamente, la hipótesis de desconectividad cortical está tomando relevancia para explicar los síntomas y déficits del procesamiento de información esta enfermedad mental. Esta hipótesis plantea un trastorno de desconectividad anatómica de múltiples circuitos corticales tales como: prefronto-talámico-estriatal, prefronto-temporal, prefronto-talámico-cerebelosa, prefronto-parietal.

La hipótesis de desconexión indica que la esquizofrenia se puede entender como un fracaso de la integración funcional en el cerebro. La integración funcional se refiere a las interacciones de los sistemas funcionalmente especializados, es decir, las poblaciones de neuronas, las áreas corticales y sub-áreas, que se requieren para la integración adaptativa sensoriomotora, síntesis de la percepción y la cognición. La integración funcional es mediada por la influencia que la dinámica o la actividad neuronal que un sistema ejerce sobre el otro y por lo tanto se basa en las conexiones entre ellos. El patrón de la conectividad está, a su vez, en función de la epigenética, la actividad y la plasticidad dependiente de la experiencia (Serra-Gonzales, 2012).

1.6 Neuroanatomía patológica de la esquizofrenia.

Se han encontrado alteraciones neuroanatómicas en los pacientes con esquizofrenia tales como alargamiento ventricular, reducción en el volumen y peso cerebral. Estudios de neuroimagen han implicado al hipocampo, la corteza prefrontal y corteza temporal superior y al tálamo. También se ha encontrado una reducción del grosor de la corteza cerebral, el número de giros, la apariencia hipocampal y en la simetría cerebral (ver Harrison y Weinberger, 2005, para revisión). Por otra parte se han detectado anomalías en el lóbulo temporal medial lo que incluye a la amígdala, hipocampo y circunvolución parahipocampal. El mismo fenómeno fue observado en la circunvolución temporal superior, en el lóbulo parietal, en particular, el lóbulo parietal inferior y sus subdivisiones de la circunvolución angular y de la circunvolución supramarginal y regiones cerebrales subcorticales incluyendo el cerebelo, los ganglios basales, el cuerpo caloso y el tálamo (Harrison 1999). Las anomalías estructurales y funcionales en el cerebro de dichos

pacientes son heterogéneas, de forma similar a la heterogeneidad de los síntomas cognitivos, conductuales y emocionales de este trastorno.

1.7 Sistema límbico e hipocampo.

La esquizofrenia tiene su etiología basada en gran medida en el sistema límbico, el cual está conformado por un conjunto de estructuras cerebrales interconectadas cuya función es gestionar respuestas fisiológicas ante estímulos emocionales. Este sistema está relacionado con la memoria, atención, instintos sexuales y la conducta (Carlson, 2006).

En la Fig. 1 se muestra un esquema sobre las estructuras que conforman este sistema y su relación entre sí mediante los diversos tipos de sistemas de neurotransmisión implicados. La corteza prefrontal media (CPFm), el hipocampo y la amígdala envían proyecciones al núcleo accumbens (NAcc), éste por un lado proyecta conexiones GABAérgicas hacia el área ventral tegmental (AVT) que a su vez envía aferencias de vuelta a aquéllas estructuras de tipo dopaminérgicas; por otro lado, el NAcc tiene dos principales salidas que son proyecciones GABAérgicas, hacia el pálido ventral (PV) y al AVT. El PV envía eferencias GABAérgicas al tálamo medio dorsal (MD) y éste envía proyecciones glutamatérgicas de vuelta al NAcc y a la CPFm cerrando así el circuito límbico (Heimer, 2003).

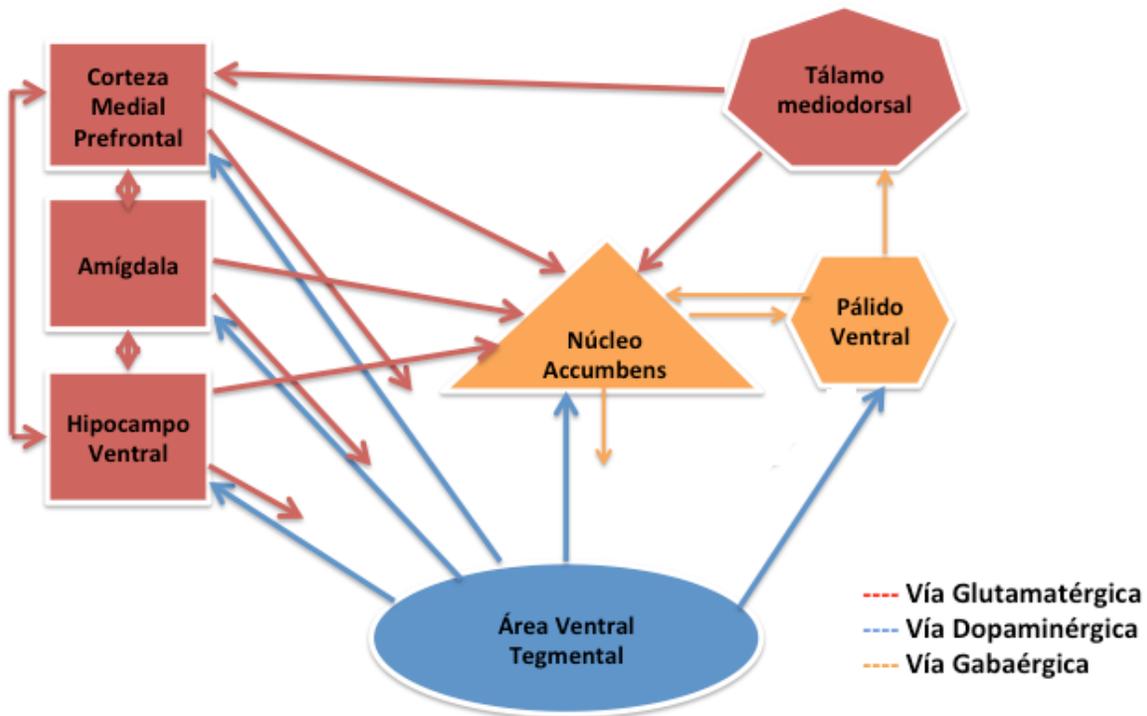


Fig. 1 Esquema representativo de las estructuras y proyecciones del sistema límbico (Modificado de Pierce, 2006).

Por otra parte, diversos estudios postmortem han mostrado que el volumen de la formación amígdalo-hipocampal en pacientes esquizofrénicos es significativamente más pequeño que en pacientes control (Goldman y cols., 2007). Esta anomalía del hipocampo se ha detectado en pacientes vivos mediante técnicas cuantitativas de fMRI. Así como, desorganización de la capa de células piramidales del hipocampo. La formación hipocampal incluye tres divisiones citoarquitectónicamente distintas: la circunvolución dentada, el hipocampo y el subículo. El hipocampo se puede dividir en tres regiones separadas, basándose en su tamaño y las conexiones de las células piramidales que residen en ellas CA1, CA2 y CA3 (Kandel, 2000).

Las áreas corticales límbicas incluyen, las circunvoluciones orbitales mediales del lóbulo frontal, la circunvolución del cíngulo en los lóbulos frontal y parietal, la circunvolución parahipocámpal en el lóbulo y la corteza temporal. Las áreas corticales límbicas reciben conexiones de las áreas sensoriales de orden superior del lóbulo temporal, así como de la corteza de asociación prefrontal y el área parieto-témporo-occipital de asociación.

1.8 Alteraciones en Corteza Temporal

Por otra parte, se han propuesto cambios en la corteza temporal de los pacientes con esquizofrenia, los cuales están asociados con el deterioro del lenguaje y con las alucinaciones. Las áreas de la corteza temporal intervienen en el procesamiento de la información auditiva y del lenguaje (Ortuño, 2010). A través de estudios de MRI se ha detectado en pacientes con esquizofrenia, reducciones de hasta el 15% en el volumen de los lóbulos temporales principalmente de la corteza auditiva primaria (para revisión, Smiley, 2009).

Giro temporal superior

Una de las regiones temporales más comúnmente implicada en la esquizofrenia es el giro temporal superior (Shenton y cols., 2001), que comprende el córtex auditivo y el planum temporal (GTS posterior). La literatura ha descrito frecuentemente una pérdida de volumen del GTS más pronunciada en el lado izquierdo (Shenton y cols., 1992; Barta y cols., 1990), área relacionada con el procesamiento lingüístico y auditivo (Galaburda y cols., 1978), a menudo afectados en la esquizofrenia. La reducción del volumen del GTS izquierdo ha sido relacionada con alucinaciones auditivas (Levitan y cols., 1999), así como con trastornos del pensamiento y del lenguaje (Vita y cols., 1995).

Giro de Heschl

Otra de las regiones es el giro de HG, el cual corresponde a las áreas 41 y 42 según Broadmann de la corteza cerebral, corresponde al área auditiva primaria. Nos permite el sentido de la audición mediante las aferencias talámicas del geniculado medial. La estimulación de esta área produce sensaciones auditivas burdas, como susurros, zumbidos o golpeteo, alucinaciones típicas en la esquizofrenia debidas a alteraciones en la asimetría de estos giros (Gur y cols., 1995).

Planum temporal

El planum temporal es la estructura cerebral más asimétrica del cerebro humano, siendo más grande en el hemisferio izquierdo en la mayor parte de los individuos (Galaburda y

cols., 1978). Los estudios en esquizofrenia del planum temporal demuestran su reducción o una inversión en su asimetría izquierda (McCarley y cols., 1999; Shapleske y cols., 1999). La comprensión y producción lingüística, ha sido correlacionada en la esquizofrenia con los trastornos del pensamiento (Petty y cols., 1995).

Otra evidencia de la afectación de la corteza temporal en la esquizofrenia son los estudios de densidad neuronal realizados por Smiley y cols., (2007) donde evaluaron el grosor de la corteza auditiva en cerebros postmortem encontrando una reducción significativa del 7% respecto a las muestras controles. Estos cambios se observaron principalmente en las capas superiores de la corteza cerebral. Asimismo, se ha observado una disminución del 13% en el volumen de neuronas piramidales de la capa III de la corteza auditiva primaria y de asociación (Sweet y cols., 2004). Estos cambios son similares a los observados en la corteza prefrontal de estos pacientes.

Se desconoce si estas alteraciones en la corteza temporal están relacionadas con estructuras subcorticales más profundas que estén relacionadas con la vía auditiva. La entrada de información al sistema auditivo es a través del oído. En este órgano ocurre el proceso de transducción de la información derivada del exterior. El oído está dividido en tres partes, oído externo el cual canaliza la energía acústica. El oído medio, que transforma dicha energía en energía mecánica. El oído interno, donde se realiza la transformación de energía mecánica en impulsos eléctricos.

La vía auditiva se interrumpe varias veces a lo largo de su trayecto, ya que establece sinapsis en varios núcleos. Esto con una finalidad funcional, pues en cada sitio se analiza aspectos diferentes del sonido.

El soma de las primeras neuronas se encuentra en el ganglio espiral de la cóclea (Fig. 2), son neuronas monopolares, de las que existen cerca de 30 mil en cada ganglio espiral. Estas establecen sinapsis con las células ciliadas, las cuales se libera glutamato. Las prolongaciones centrales de las neuronas ganglionares constituyen en VIII nervio craneal por donde la información acústica viaja penetrando la cavidad craneal, atravesando el conducto auditivo interno, introduciéndose al tronco del encéfalo, a nivel del surco bulbotuberancial. De manera bifurcada se establece sinapsis con las segundas neuronas

ubicadas en los núcleos cocleares dorsal y ventral (Fig. 2). Estos núcleos se localizan en la porción más alta de la medula oblonga, en la proximidad del ángulo lateral del IV ventrículo. Los axones que salen de las segundas neuronas forman tres tractos principales (Fig 2). El tracto auditivo dorsal en el cual las fibras provienen del núcleo coclear dorsal, discurren cerca de la superficie del suelo del IV ventrículo y, después de cruzar la línea media, terminan en las neuronas de los núcleos contralaterales del lemnisco lateral. El segundo tracto auditivo es el tracto auditivo intermedio, donde las fibras proceden de ambos núcleos cocleares, discurren oblicuamente por el tegmento del puente en un plano intermedio y terminan en el núcleo olivar superior de ambos lados. Finalmente el tercer tracto del cuerpo trapezoide, se origina en el núcleo coclear ventral, discurre horizontalmente en el límite entre el pie y el tegmento del puente y termina en los núcleos del cuerpo trapezoide, situado por detrás y por delante del tracto homónimo, y el núcleo olivar superior. La mitad de sus fibras son cruzadas (Ojeda e Icardo, 2004).

Los tres tractos contienen fibras que siguen un camino ascendente hasta hacer sinapsis en el colículo inferior, formando un tracto fuertemente mielinizado y organizado tonotópicamente, denominado lemnisco lateral (Fig. 2). Los cilindroejes originados en este núcleo avanzan por el segmento sublenticular de la capsula interna formando las radiaciones acústicas, para terminar finalmente en la corteza auditiva. La corteza auditiva se sitúa en el lóbulo temporal. El área auditiva primaria (A1) corresponde a las áreas 41 y 42 de Brodmann. Inmediatamente por debajo de esta, y ocupando gran parte de la circunvalación temporal superior, se localiza el área auditiva secundaria (A2), que corresponde al área 22 de Brodmann. La corteza auditiva de cada hemisferio recibe información bilateral (Ojeda e Icardo, 2004).

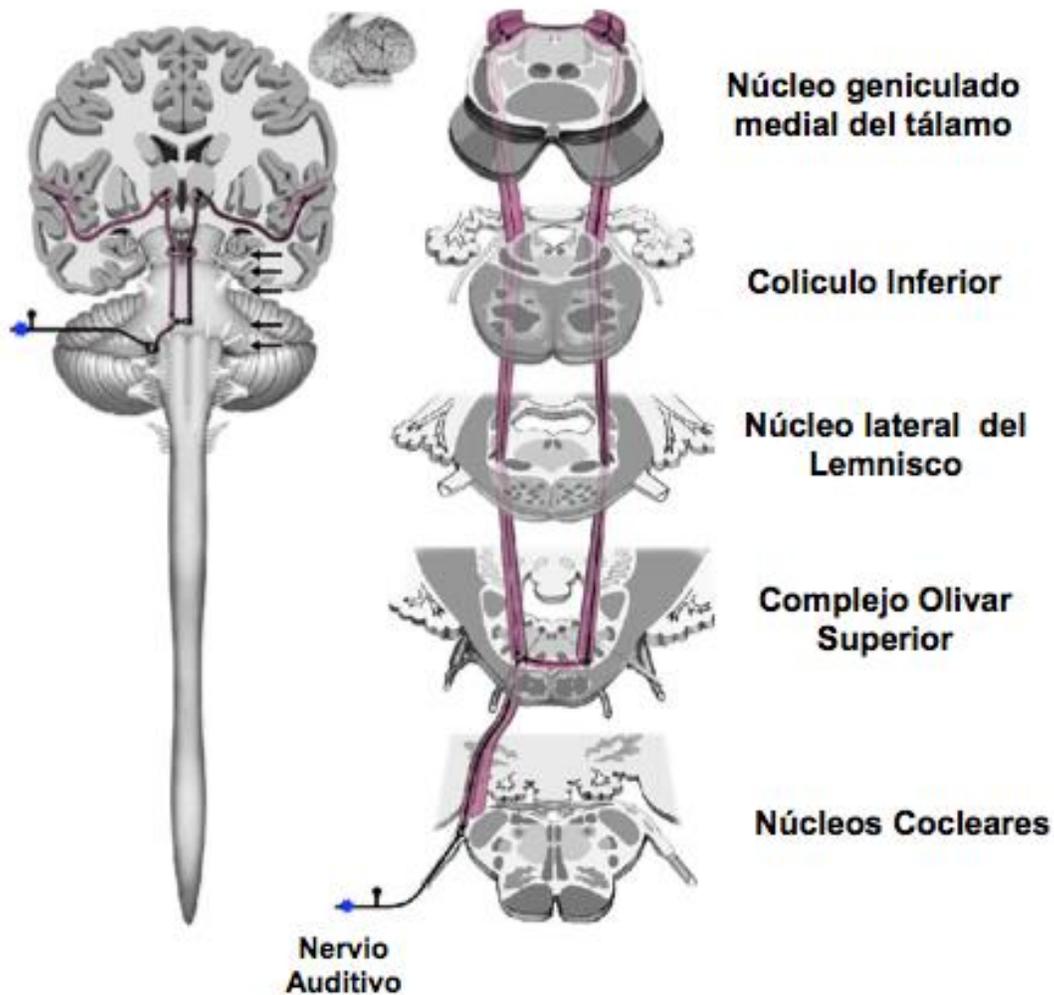


Fig. 2. Esquema de la vía auditiva. En dicho esquema se presenta los núcleos y áreas que conforman la vía auditiva (Hendelman y cols., 2006).

2. Modelos Animales en trastornos psiquiátricos.

Los modelos animales son de gran importancia dentro del estudio de trastornos psiquiátricos. A través de estos se puede investigar las bases neurobiológicas de dichos fenómenos. Se puede realizar monitoreo invasivo de cambios estructurales y moleculares que subyacen la causa de estos trastornos. Así como diseñar nuevos tratamientos farmacológicos (Jones y Cols., 2011).

Para que un modelo animal psiquiátrico pueda ser validado este debe cumplir con tres principales criterios:

- 1) Validez de cara: Poder simular la fenomenología del trastorno psiquiátrico.
- 2) Validez de constructo o Etiológica: Poder reproducir factores inductores (mecanismos neurobiológicos) de la enfermedad.
- 3) Validez predictiva: Poder replicar respuestas farmacológicas antes observadas en pacientes. Desarrollar y validar nuevas farmacoterapias.

Para el estudio de la esquizofrenia se han desarrollado alrededor de 50 modelos animales, los cuales pueden ser ampliamente agrupados en cuatro principales categorías; desarrollo, farmacológicos, lesión y genéticos (Carpenter y Koenig, 2008).

Dentro de los modelos de desarrollo se encuentran aquellos que tienen que ver con alteraciones perinatales, tales como hipoxia al nacimiento. Respecto a los modelos farmacológicos destacan la administración de MK-801, amfetamina, apomorfina, PCP entre otros. Dentro de los modelos genéticos encontramos el modelo de ratones *knock-out*, DISC-1, ErbB4, Dysbindin entre otros (Jones y cols., 2011).

2.1 Modelo de lesión neonatal de hipocampo ventral.

El modelo animal de neurodesarrollo de esquizofrenia más caracterizado hasta el momento es el de la lesión neonatal del hipocampo ventral (LnHV). Este ha sido ampliamente aceptado y reconocido como un modelo heurístico de dicha patología. Fue postulado por Lipska y Weinberger, (2002). Estos autores concibieron su modelo basados en los siguientes fenómenos descritos en pacientes con esquizofrenia:

- Alteraciones en el sistema dopaminérgico.
- Estudios de Resonancia magnética nuclear (RMN) y tomografía que revelaron un aumento ventricular y cambios en el hipocampo en estos pacientes.
- Estresores ambientales en el segundo y tercer trimestre de vida gestacional tales como: complicaciones obstétricas, infecciones, desnutrición materna.

Resaltando que esta etapa es latente para la realización de interconexiones del hipocampo con otras áreas cerebrales. Lipska y Weinberger, (2002) utilizaron la técnica de lesión por

medio del ácido iboténico (IBO) introducida por Schwarcz y cols. (1979). El IBO actúa como un potente neuroexcitador, su mecanismo de acción es a través de los receptores postsinápticos NMDA (N-metil D-aspartato) localizados en las dendritas de la neurona, permitiendo al Ca^{+2} acceder al entorno intracelular, cuya entrada excesiva lleva finalmente a la muerte de la neurona por excitotoxicidad a través de procesos apoptóticos.

Se ha observado en ratas con LnHV afectaciones en múltiples estructuras cerebrales, las cuales incluyen; lóbulos frontal y temporal medial, estriado ventral y el sistema mesocorticolímbico dopaminérgico. Esta lesión interrumpe el desarrollo de la extensión del circuito cortical y subcortical en el cual el hipocampo participa.

La LnHV produce anomalías conductuales y bioquímicas similares a pacientes con esquizofrenia (Tabla 3, Figura 3). Aunque los animales con esta lesión parecen no presentar anomalías a la edad prepúber (35 DP), a edad púber (60 DP) si desarrollan problemas de interacción social (Becker y Grecksch, 2003), de conducta de búsqueda-recompensa (Le Pen y cols., 2002), decremento de la catalepsia inducida por el haloperidol, decremento a las estereotipias inducidas por la apomorfina, déficit en el aprendizaje espacial, déficit en la memoria de trabajo, alteración de la actividad eléctrica cerebral (Chambers y cols., 1996). Asimismo, estos animales han mostrado un deterioro en la inhibición del pre-pulso (IPP) (Le Pen y Moreau, 2002).

A continuación se presenta una tabla que resume algunas de las alteraciones funcionales y conductuales que se presentan en el modelo de lesión neonatal del hipocampo ventral y que se encuentran fuertemente relacionadas con la sintomatología propia de la esquizofrenia.

	Modelo de lesión en HV	Esquizofrenia
Cambios conductuales	Hiperlocomoción al estrés Déficit inhibición del prepulso al susto Déficit de Inhibición Latente Déficit en pruebas de alternaciones retardadas Reducción en contactos sociales Déficits en conducta de aseo	Vulnerabilidad al estrés Déficit inhibición del prepulso al susto Déficit de Inhibición latente. Déficit en la memoria de trabajo. Aislamiento social. Problemas de aseo
Respuesta farmacológica	Hiperactividad inducida por anfetamina Estereotipias inducidas por apomorfina Reduce la catalepsia al haloperidol Hiperactividad inducida por MK-801 y PCP	Incremento de síntomas por agonistas dopaminérgicos. Tolerancia a los neurolepticos. Incremento de síntomas por ketamina.
Cambios moleculares en la corteza prefrontal	↓ Niveles NAA ↓ RNAm GAD67 ↓ RNAm FNDC	↓ Niveles NAA ↓ RNAm GAD67 ↓ RNAm FNDC
Cambios en la actividad eléctrica cerebral	Baja potencia en las bandas delta, theta, alfa, beta en lóbulos frontales, parietales y occipitales (Valdés-Cruz, 2012)	Baja potencia en las bandas theta, alpha en lóbulos frontales.

Tabla 3. Modelo de lesión neonatal en hipocampo ventral. FNDC (factor neurotrófico derivado del cerebro), GAD67 (glutamato descarboxilasa-67), NAA (N-acetil-aspartato) (Modificada de Lipska y Weinberger, 2002)

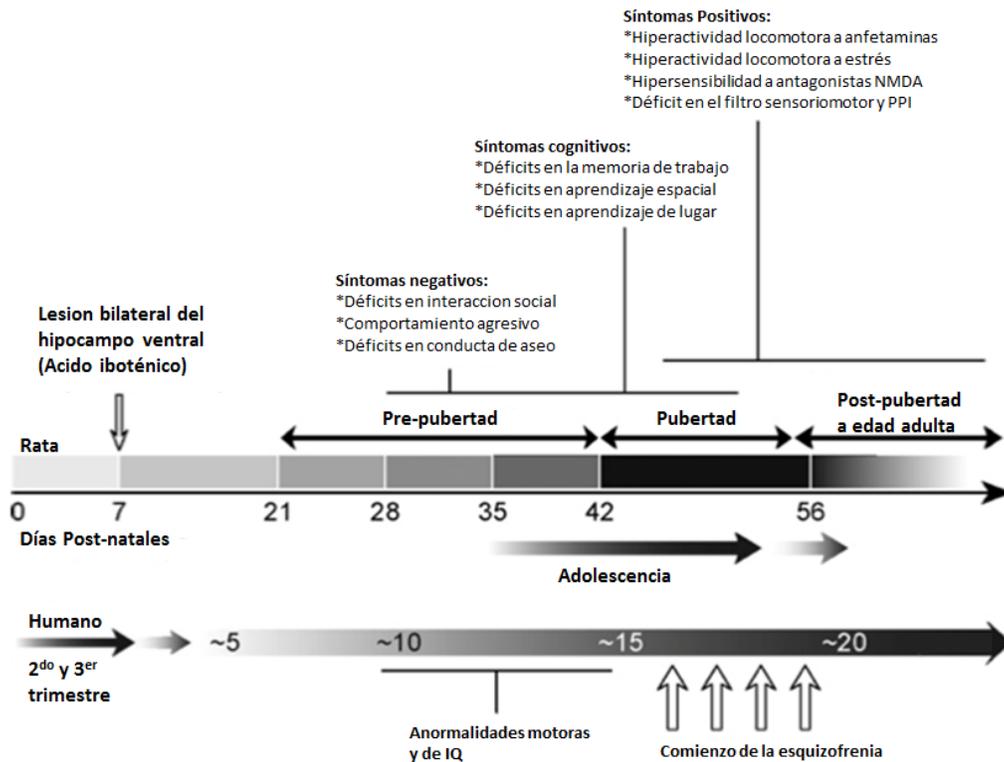


Figura 3. Esquema análogo de cambios observados en ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral y síntomas en pacientes con esquizofrenia (Tomada de Tseng y cols., 2009).

2.2 Estudios de electroencefalografía en pacientes con esquizofrenia y modelo animal de LnHV.

Se han observado múltiples alteraciones en el EEG en personas con trastorno de esquizofrenia (Tabla 4) y en ratas con LNHV (Fig. 4). De manera general, el electroencefalograma es el registro de la actividad eléctrica de las neuronas que integran la corteza cerebral, la cual se mide en microvoltios (μV). Esta se deriva de un banco de electrodos colocados sobre el cuero cabelludo (Rowan y Tolunsky, 2004). La amplitud de un EEG normal va de -100 a $+100 \mu\text{V}$ (Coles y Rugg, 1995). Debido a que entre la corteza cerebral y los electrodos, se anteponen el cráneo y otros tejidos, la señal es débil y representa la actividad colectiva de una población difusa de neuronas (Rains, 2004). La mayor parte de lo registrado parece que tiene su origen en las neuronas, en las que hay

varias posibles fuentes de actividad eléctrica: los potenciales de acción, los potenciales postsinápticos (PPS) y la despolarización neuronal crónica. La actividad electroencefalográfica espontánea es un flujo de corrientes en el espacio extracelular. Dichas corrientes son generadas por la suma de potenciales sinápticos excitatorios e inhibitorios que se dan en millones de neuronas corticales, las que a su vez llevan información de las neuronas que están en capas más profundas. Los potenciales de acción de manera individual, no contribuyen directamente a la actividad electroencefalográfica (Emerson y Pedley, 2004). El potencial de acción pasa a través del axón y va a la terminación nerviosa, en donde se libera el neurotransmisor, el cual provoca la modificación de la conductancia en la membrana postsináptica y en el potencial transmembrana. La señal puede generar un efecto excitador, induciendo una reducción local del potencial transmembrana (despolarización); a esto se le llama potencial postsináptico excitatorio (PPSE), localizado generalmente en las dendritas. El potencial postsináptico inhibitorio (PPSI) provoca una hiperpolarización local y se da en el cuerpo neuronal. Cuando existe una gran cantidad de PPSE, se origina una zona de negatividad en la superficie proveniente de las capas profundas y cuando la corriente fluye a una zona de negatividad relativa, da como resultado una zona de despolarización, que se detecta como una onda negativa en los electrodos del cuero cabelludo. De igual forma, el PPSI, puede originar ondas positivas, si el flujo generado viaja hacia la corteza cerebral, o negativas si se aleja de ella (Martínez y Rojas, 1998). La combinación de ambos potenciales induce corrientes que fluyen hacia el interior y alrededor de la neurona con un potencial de campo de suficiente nivel para ser registrado en el cuero cabelludo. La duración de un PPS, 100 ms, es similar a la duración de la onda alfa promedio (Rowan y Tolunsky, 2004).

El EEG, además de que refleja las actividades intrínsecas espontáneas de las neuronas corticales, depende de estímulos aferentes de estructuras subcorticales como el tálamo y formación reticular (Emerson y Pedley, 2004; Pocock y Richards, 2005).

De manera específica en pacientes con esquizofrenia se han observado alteraciones en la actividad eléctrica basal, en el rango de frecuencias de la banda alfa y es asociado a síntomas negativos de este síndrome (Merryn y Floyd, 1992). Además, ante tareas de

memoria de trabajo dicho fenómeno fue observado en el rango de frecuencias de las bandas teta, alfa y beta en la regiones prefrontales (Haenschel y col., 2009).

Valdés-Cruz y cols., (2011) fueron los primeros en evidenciar alteraciones en los espectros de potencia de ratas adultas con LnHV en comparación con ratas controles (Fig., 4). En el espectro de potencia correspondiente a la banda de 1 a 8 Hz, en las cortezas frontal, parietal y occipital de animales lesionados se observó un claro aplanamiento del registro. En la banda que oscila entre 9 y 14 Hz se observó una tendencia similar, nuevamente la actividad eléctrica cerebral de las ratas lesionadas se observó aplanada, durante prácticamente las 6 horas de registro ininterrumpido, además de estar disminuida significativamente en las cortezas parietal y occipital. Respecto a la banda de alta frecuencia 15-30 Hz se observa mismo fenómeno. Estas reducciones están asociadas a la ausencia de una apropiada inervación hipocampal a causa de la lesión ocurrida durante un periodo crítico del neurodesarrollo, con consecuencias a largo plazo sobre los circuitos corticales.

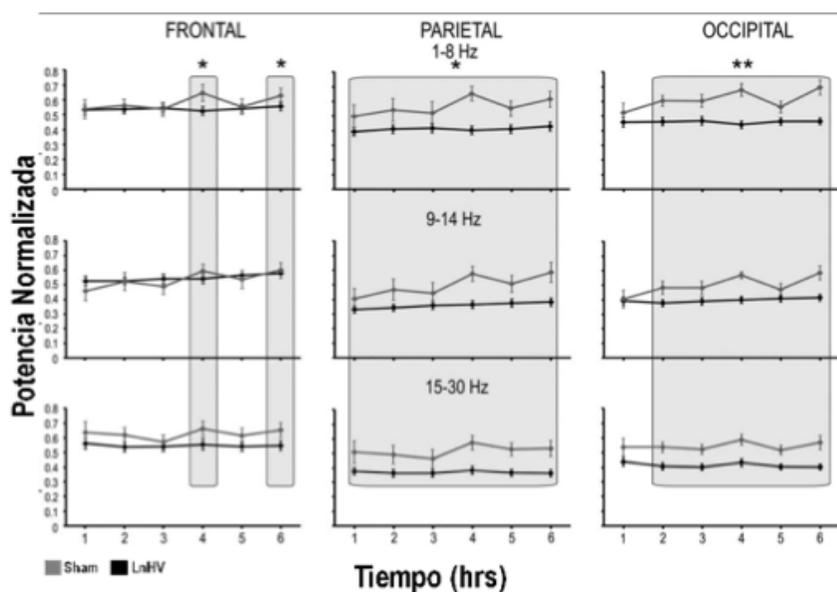


Fig. 4 Esquema que representa la potencia normalizada de la actividad eléctrica basal de ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral en comparación con ratas sham. Se muestran los valores de la potencia en tres regiones corticales, en las bandas de frecuencia 1-8 Hz, 9-15 Hz y 15-30 Hz, durante un periodo de 6 horas de registro continuo, a intervalos de 1 hora (Tomado de Valdés-Cruz y cols., 2012).

Los potenciales provocados son otro tipo de medición eléctrica, en el cual también se observan alteraciones, para mejor entendimiento de esta medida, a continuación describiré las generalidades de los componentes del mismo.

2.2.1 Potenciales Provocados.

Los potenciales provocados (PP) son eventos eléctricos derivados del tejido neuronal. Estos ocurren en respuesta a estimulación sensorial. Richard Caton (1875), fue el primero en describirlos, al demostrar una onda negativa provocada después de un estímulo visual en la corteza de conejos y simios. Años después, Berger reportó el mismo fenómeno en seres humanos.

Los PP se clasifican en dos grandes grupos; potenciales exógenos y endógenos. Los potenciales exógenos son también llamados potenciales sensoriales. A través de estos se puede explorar el funcionamiento de las vías nerviosas que llevan la información desde los órganos de los sentidos hasta el cerebro.

Los principales componentes de los potenciales provocados son polaridad, amplitud, latencia y topografía. La polaridad puede ser negativa (N) o positiva (P). La latencia es medida en milisegundos, desde la presentación del estímulo hasta la aparición del pico o valle de onda. La amplitud (μV) es la diferencia en voltaje entre la línea base pre-estímulo y el mayor pico de la onda del PP dentro de un parámetro de latencia. La topografía se refiere a la distribución del potencial en la corteza cerebral, esta permite detectar si hay un lugar concreto en donde aparezca el componente (Coles y Ruggs, 1995). Respecto a los potenciales provocados sensoriales, convencionalmente se describen con una polaridad negativa (N), una latencia de 50 ms. Su amplitud depende las características del estímulo (Coles y Rugg, 1995) (Fig. 5).

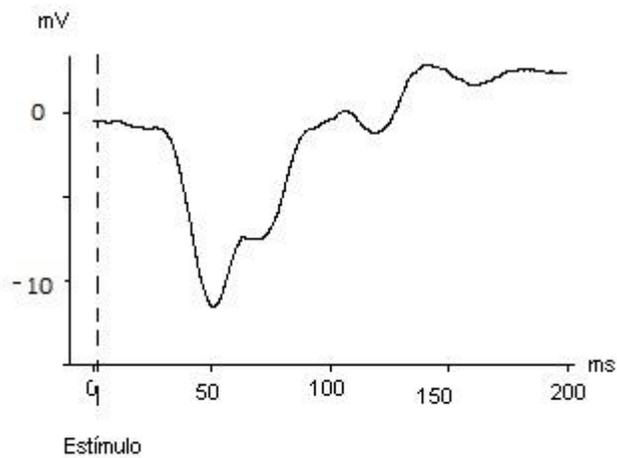


Fig. 5 Potencial provocado sensorial. En esta figura se muestra potencial provocado sensorial obtenido por estimulación visual, registrado en la corteza cerebral de la rata (Tomado de un experimento del laboratorio de Neurofisiología Integrativa de la BUAP).

Los potenciales provocados sensoriales a su vez se denominan según el estímulo que produce esta señal, pueden ser: Potencial provocado visual (PPV), Potencial provocado auditivo (PPA) y potencial provocado somatosensorial (PPSS). De una manera más detallada a continuación se explica el PPA.

2.2.2 Potencial Provocado Auditivo (PPA)

Un PPA es una respuesta electrofisiológica obtenida después de un estímulo acústico, se extrae con técnicas apropiadas de promediación. En seres humanos se han identificado tres principales categorías de potenciales provocados auditivos. Potencial provocado auditivo de tallo cerebral (BAEPs), potencial provocado auditivo de latencia media (MAEPs) y potencial provocado auditivo de larga latencia (LAEPs). De manera análoga, estas ondas han sido descritas en otro tipo de mamíferos tales como gatos, conejo de guinea, ratas, entre otros. A demás, se ha caracterizado un cuarto potencial en la rata, el cual por sus características naturales de obtención no puede ser directamente observado en humanos, el potencial provocado auditivo cortical (CAEP) (para revisión, Shawn, 1988).

En la rata los principales componentes de los PPA consisten en al menos dos ondas

positivas y negativas referidas como P1, N1, P2, N2, con latencias que oscilan entre 1-11 ms, 16-23ms, 25-35 ms, 35- 55 ms respectivamente (Fig., 6). La máxima actividad de este potencial se encuentra en las regiones de la corteza cerebral auditiva primaria (Arezzo y cols., 1975).

Respecto a la generación de este potencial se ha implicado a estructuras específicas talamocorticales para la ondas P1-N1, mientras que la neurogénesis de la onda P2, N2 es relacionada por una combinación de proyecciones no específicas talamocorticales (Barth y Di, 1990; Shaw, 1988). Barth y Di (1990) proponen que las ondas P1-N1 se deben a la activación simultánea de células piramidales supra e infragranulares, que el componente P2 representa repolarización y la onda N2 es asociada principalmente a procesos de inhibición.

Definición de componentes del PPA

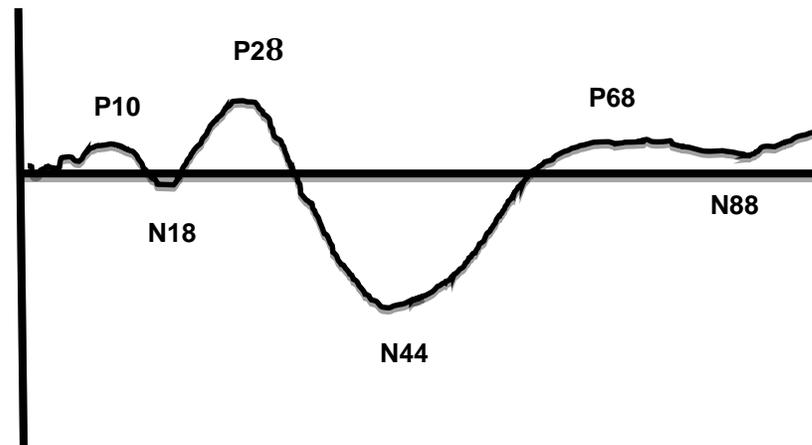


Fig. 6. Potencial provocado auditivo. Representación gráfica de un Potencial Provocado Auditivo (PPA) registrado en la corteza cerebral de la rata. Los componentes son nombrados de acuerdo a la latencia promediada de los picos, así como de su positividad o negatividad (Tomado de Meeren y cols., 2001)

Los PPA en la rata se presentan en el día 16 postnatal. Entre los factores que intervienen en la maduración de este potencial se encuentran aquellos relacionados con la progresiva

mielinización de los tractos de las fibras de los axones, el crecimiento del diámetro de estas, la facilitación de la transmisión sináptica y la sincronización de las descargas aferentes. Además, existe fuerte evidencia, entre la maduración de este potencial y el número de uniones sinápticas presentes en la corteza de la rata (Revisión de Shaw, 1988).

En pacientes con esquizofrenia se han descrito alteraciones en los potenciales relacionados al evento de tipo auditivo N100, P200, P300 se observaron menores amplitudes y mayores latencias en estas ondas (Jansen y cols., 2010). Apoyando a lo anterior, Gregory y Braff (2004) demostraron potenciales tipo P50, N100 y P300 tardíos y con menores amplitudes en comparación a sujetos sanos. Asimismo, se ha observado alteraciones en la onda *Mismatch Negative* (MMN por sus siglas en inglés) en estos pacientes (Rosburg, 2004) fenómenos relacionados con déficits cognitivos.

Respecto a la evaluación de vías sensoriales. Jansen y cols., (2010) demostraron que pacientes con este síndrome presentan menores amplitudes en potenciales provocado (PP) auditivos. Butler y Cols. (2007) observaron mismo fenómeno en (PP) visuales (Fig.7)

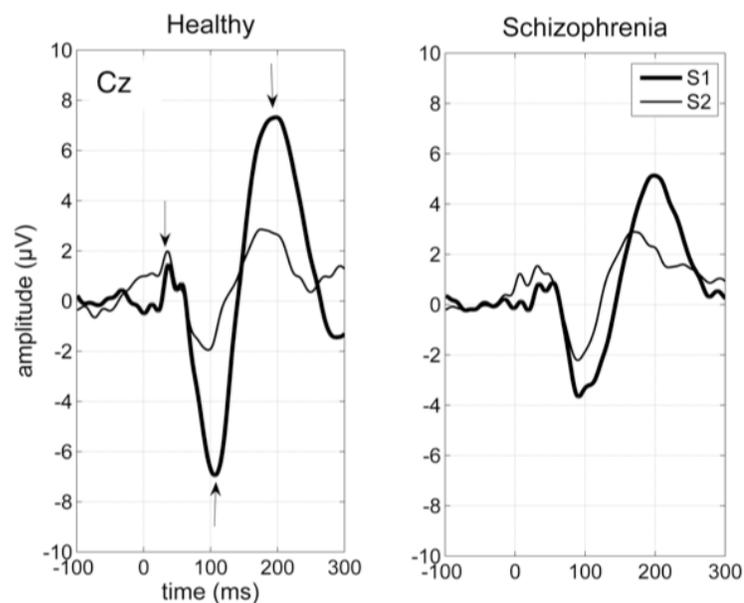


Fig. 7 Potencial Provocado Auditivo (P50, N100, P200). En la figura se representa el Potencial Provocado Auditivo (PPA) obtenido con dos estímulos diferentes (S1, S2). Los sujetos con esquizofrenia presentaron menores amplitudes en todos los componentes del potencial (Tomado de Klevest y cols., 2010).

Por otra parte, el modelo animal de LnHV ha sido escasamente evaluado en estudios de este tipo; Vohs y cols., (2009) estudiaron el paradigma de potenciales provocados para medir el “gating” sensorial. El cual consiste en la presentación de dos estímulos diferentes con la finalidad de obtener la onda P28 y N44. Este estudio no demostró diferencias significativas en la amplitud y latencia del potencial respecto a las ratas controles. Por otra parte Vohs y cols., (2009) estudiaron el sistema sensorial auditivo de ratas con LnHV donde observaron un decremento en la banda de alta frecuencia beta, así como problemas en la región temporal en las bandas teta y beta en pruebas de “*steady response*”.

En la siguiente tabla, se muestra un resumen de los estudios realizados en el ámbito de electrofisiología en personas con esquizofrenia y ratas con LnHv.

Actividad Eléctrico Cerebral				
Tipo de Actividad	Alteración	Paciente con esquizofrenia	Rata con LnHv	Implicación Clínica
Basal	Banda Delta	✓	✓	n/a
	Banda Teta	✓	✓	n/a
	Banda Alfa	✓	✓	Síntomas negativos
	Banda Beta	✓	✓	n/a
	Banda Gamma	✓		Déficits Sensoriales
Potenciales provocados	Visual	✓		Déficits Sensoriales
	Auditivo	✓		Déficits Sensoriales
	Somatosensorial	✓		Déficits Sensoriales
	“ <i>Steady response</i> ”	✓	✓	Déficits Sensoriales
Potenciales Relacionados al evento	MMN	✓		Déficits Cognitivos
	N100/P200	✓		Déficits Cognitivos
	P50/P300	✓		Déficits Cognitivos

Tabla 4. Comparación de alteraciones de actividad eléctrica cerebral obtenidas en humanos y en ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral.

2.3 Estudios de estereología en la esquizofrenia y en el modelo de lesión neonatal de hipocampo ventral.

La estereología es un método por el cual se puede analizar cuantitativamente la morfología de las células o estructuras tisulares, tales como; densidad de volumen, superficie (área) y numérica (población). En la última década se han desarrollado un gran número de estudios estereológicos del cerebro esquizofrénico postmortem (Glaser y cols., 2007). Esto con el objetivo de identificar las regiones del cerebro afectadas por esta enfermedad.

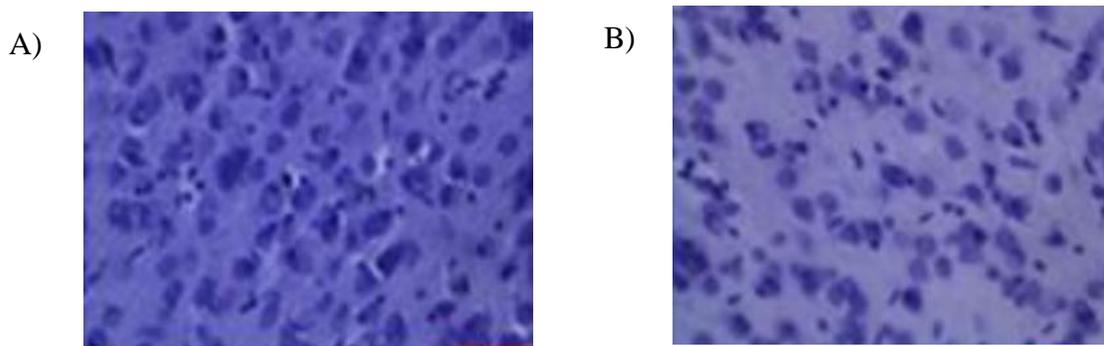
El tálamo es una estructura de interés debido a su conectividad con áreas de la corteza cerebral, con los ganglios basales y el sistema límbico. Se ha determinado que las personas con esquizofrenia presentan en el núcleo medial del tálamo una reducción significativa del 40% en el número de neuronas, astrocitos y oligodendrocitos. Es por esto que este núcleo ocupa un volumen y densidad menor en comparación con sujetos sanos (Thune y cols., 2000). Este mismo fenómeno lo presenta el núcleo talámico ventral anterior y medial, sin embargo, los núcleos talámicos ventral anterior, central lateral, reticular y dorsolateral no muestran diferencias significativas (Manaye y cols., 1998).

Respecto a estructuras límbicas se han encontrado reducciones significativas del 50% en el número de neuronas del hipocampo (Falkai y cols., 1986) y el núcleo accumbens. Por otra parte en el estriado se ha observado un aumento significativo en el número total de neuronas. No se han identificado diferencias significativas en el núcleo basolateral de la amígdala (Revisión, Thune y Pakkenberg, 2000).

En cuanto a las regiones corticales estudiadas se ha observado una disminución en la densidad de neuronas en la corteza prefrontal y en el giro cingulado anterior (Revisión, Thune y Pakkenberg, 2000).

Sobre los estudios de estereología realizados en rata con lesión neonatal de hipocampo

ventral se ha reportado disminución en el número de neuronas para las áreas de la corteza media prefrontal, la amígdala basolateral. Este fenómeno no fue observado para el núcleo accumbens y el caudado putamen (Vásquez-Roque y cols., 2011; Fig. 8). Hasta el momento estos son los análisis reportados en la literatura.



50 µm

Fig. 8 Fotografías que muestran neuronas teñidas con violeta de cresilo de la corteza prefrontal para ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral (B) y ratas con lesión falsa (A). Se puede observar un claro decremento en el número de somas para las ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral (Tomado de: Vásquez-Roque y cols., 2011)

2.4 Estudios morfología neuronal en rata con lesión neonatal de hipocampo ventral

La técnica de impregnación argéntica de Golgi es uno de los métodos que mejor describe la morfología neuronal completa en tres dimensiones. Se caracteriza porque revela sólo una pequeña proporción de células a través del tejido circundante no impregnado. El hecho de que pocas neuronas se impregnen (tomen la coloración negra) dificulta la realización de estudios cuantitativos, pero facilita la descripción de su morfología completa. Si la mayoría de neuronas se impregnara la superposición de los procesos celulares formaría una maraña indescifrable. Según las condiciones experimentales y la variante de la técnica de Golgi ensayada, el número de neuronas coloreado adecuadamente oscila entre 1 y 5%. A través de este podemos analizar las células del sistema nervioso central tanto por su longitud dendrítica total, el número máximo de orden y densidad de espinas dendríticas.

Como hemos señalado en los antecedentes de la presente tesis, los pacientes con esquizofrenia presentan alteraciones morfológicas en estructuras del sistema límbico tales como; corteza prefrontal, amígdala, hipocampo, corteza orbitofrontal, lóbulos temporales

entre otras. Del mismo modo, se ha evidenciado en el modelo de LnHV en ratas de edad pos-púber alteraciones morfológicas en la longitud dendrítica y número de orden dendrítico en la corteza prefrontal capa III y V, en la amígdala basolateral, núcleo accumbens (Vásquez-Roque y cols., 2012),

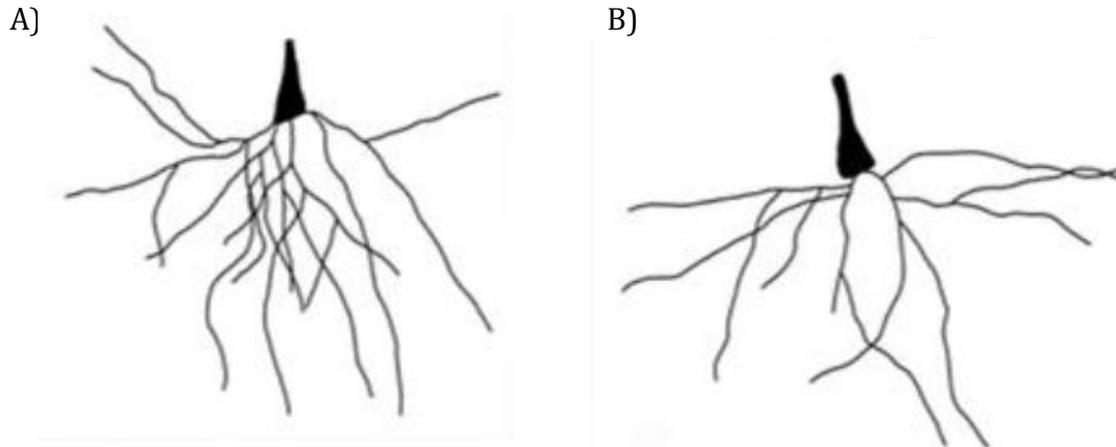


Figura 9. Representación esquemática de las dendritas de las neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens para ratas con lesión falsa (A) y lesión neonatal de hipocampo ventral (B). Se puede observar que existe una reducción en la longitud dendrítica y orden dendrítico para las ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral.

3. Planteamiento del problema.

El síndrome de esquizofrenia es un problema de salud pública que afecta al menos al 1% de la población mundial. En México se estima que existen cerca de 1 millón de pacientes con esta enfermedad mental (Frenk y cols., 2002). Es un síndrome neurodegenerativo que afecta las funciones mentales superiores y el estado de ánimo (Silva-Gómez, 1998) provocando una marcada disfunción social y laboral. El costo para la sociedad de esta enfermedad se estima en miles de millones de dólares (para revisión, Andreasen 2000).

Los pacientes con esquizofrenia presentan afectaciones en los lóbulos temporales de la corteza cerebral, tales como; reducción hasta del 15% en el volumen de esta zona (Shenton y cols., 2001; para revisión, Smiley, 2009), reducciones en la densidad neuronal (Smiley y cols., 2007), disminución hasta del 13% en el volumen de neuronas piramidales de la capa III de la corteza temporal primaria y secundaria (Sweet y cols., 2004). Estas afectaciones se han corroborado con estudios de electrofisiología, se ha detectado que estos pacientes presentan alteraciones en la actividad eléctrica basal en el lóbulo temporal (Merryn y Floyd, 1992), así como alteraciones en los potenciales provocados sensoriales (Butler y cols., 2007; Jansen y cols., 2010) relacionados al evento (Gregory y Braff 2004; Jansen y cols., 2010) y MMN (Rosburg, 2004). Estas alteraciones están fuertemente relacionadas con fallas en la producción y comprensión lingüística (Pretty y cols., 1995), alucinaciones auditivas tales como susurros, zumbidos o golpeteo, problemas en el procesamiento de información auditiva (Gur y cols., 1995) que aquejan los pacientes con esquizofrenia.

Los modelos animales para el estudio de trastornos psiquiátricos son de gran importancia ya que a través de estos se puede estudiar las bases neurobiológicas subyacentes a los síntomas reportados por los pacientes. A través de estos podemos monitorear de manera invasiva los cambios estructurales y moleculares que subyacen la causa de este trastorno. (Jones y Cols., 2011). El modelo animal de neurodesarrollo de esquizofrenia más caracterizado hasta el momento es el de la lesión neonatal del hipocampo ventral (LnHV). Este ha sido ampliamente aceptado y reconocido como un modelo heurístico de dicha patología (Lipska y Weinberger, 2002). La lesión neonatal de hipocampo ventral induce en la rata una serie de cambios conductuales, moleculares, fisiológicos y electrofisiológicos, semejantes a los observados en pacientes con trastorno esquizofrénico (para revisión, Tseng

y cols., 2009).

Existen escasos estudios sobre la fisiopatología del daño en la corteza temporal causado por la esquizofrenia, hasta el momento no se han realizado estudios de estereología o morfología de esta área que permitan dilucidar las posibles alteraciones en la densidad neuronal, así como modificaciones en los procesos sinápticos. Dentro de las alteraciones electrofisiológicas descritas recientemente, se ha demostrado que en ratas con LNHV se presenta una reducción en los espectro de potencia para las bandas alfa, beta, teta y delta en las cortezas temporal (Valdez-Cruz, 2011). Lo anterior, nos permite suponer, que algunos procesos integrados en la corteza temporal se encuentran afectados en dicho modelo por lo que resulta de gran interés estudiar los potenciales provocados auditivos.

Además, estudios previos han demostrado que las ratas LNHV muestran una disminución en la densidad neuronal en zonas límbicas (Vásquez-Roque y cols. 2012), es por esto que podríamos suponer que este tipo de alteraciones morfológicas podrían estar presentes en la corteza temporal auditiva primaria y secundaria generan modificaciones en los potenciales provocados auditivos.

4. Hipótesis

La lesión neonatal de hipocampo ventral produce alteraciones en la amplitud de los potenciales provocados auditivos, así como una disminución en la densidad de las neuronas, aumento de las células gliales y alteraciones morfológicas en la corteza temporal auditiva de la rata adulta.

5. Objetivo general

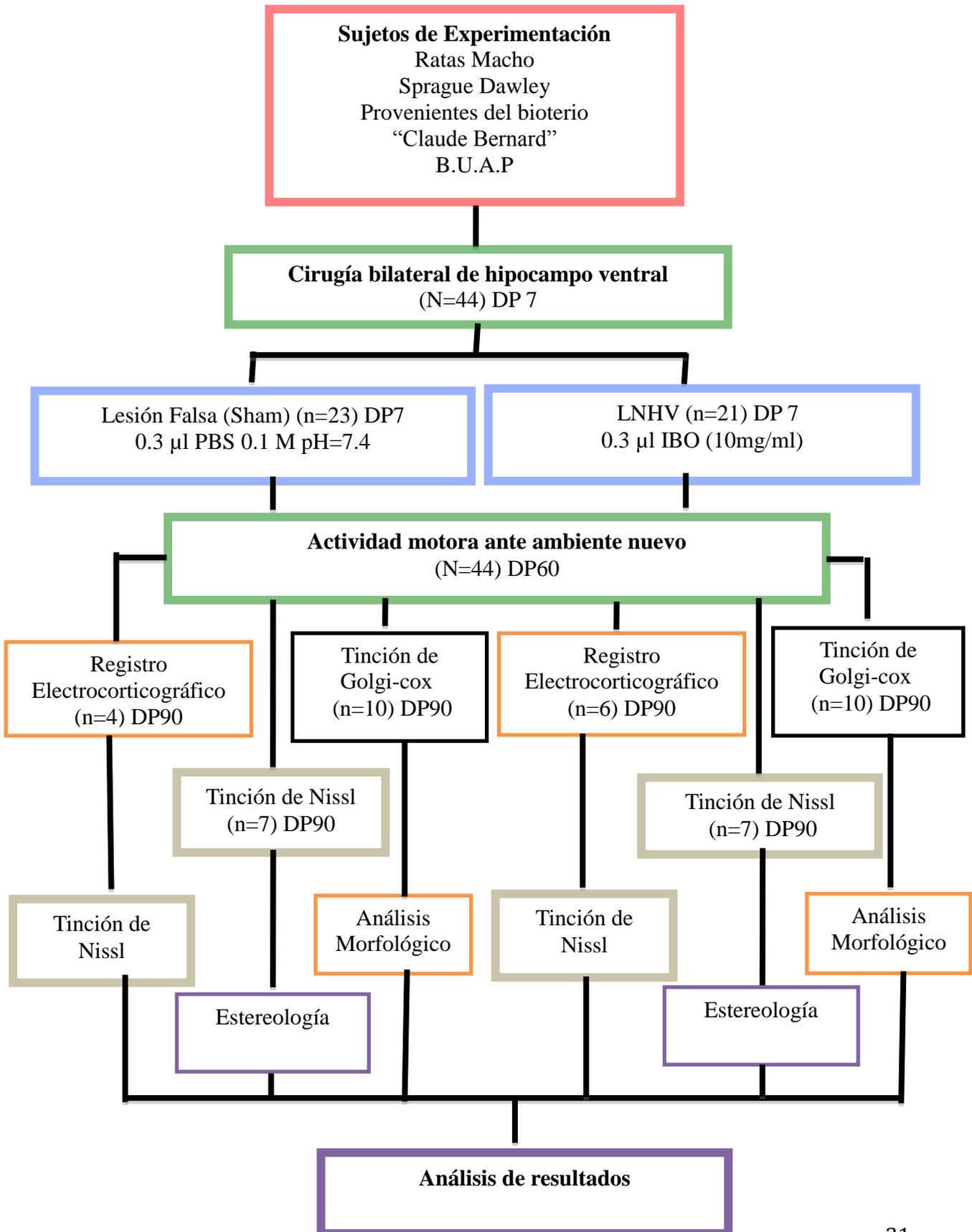
Determinar las alteraciones en la corteza temporal de la rata adulta causadas por la lesión neonatal de hipocampo ventral.

5.1 Objetivos particulares

Evaluar en ratas adultas con lesión neonatal de hipocampo ventral:

- a) La respuesta exploratoria ante ambiente novedoso en campo cerrado.
- b) La amplitud máxima de los potenciales provocados auditivos en la corteza temporal.
- c) La latencia de los potenciales provocados auditivos en la corteza temporal.
- d) La densidad de neuronas de la corteza temporal auditiva primaria y secundaria.
- e) La densidad de células gliales de la corteza temporal auditiva primaria y secundaria.
- f) La morfología dendrítica de las neuronas piramidales de capa III de la corteza temporal primaria y secundaria.

6. Diagrama de trabajo.



7 Metodología.

7.1 Sujetos de experimentación

Se utilizaron ratas preñadas Sprague Dawley (SD) procedentes del Bioterio “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Las ratas fueron albergadas individualmente en condiciones de bioterio. Se controló la temperatura 23 °C y humedad 40 % con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas (07:00-19:00 horas), con libre acceso a agua y alimento. Al día 7 de nacimiento se formarán camadas de 8 machos, y de forma aleatoria se conformarán los siguientes grupos:

Grupo 1. Lesión falsa de hipocampo ventral (Sham), N=23

Grupo 2. Lesión neonatal de hipocampo ventral (LnHV), N=21

7.2 Procedimientos generales.

7.2.1 Cirugía estereotáxica neonatal de hipocampo ventral DP 7.

Una vez realizado lo anterior las ratas fueron anestesiadas por hipotermia en un lapso de 15 min, se colocaron en el equipo estereotáxico sobre un adaptador para ratas neonatas, en el cual, se realizó la cirugía estereotáxica para lesionar bilateralmente el hipocampo ventral en las siguientes coordenadas: AP= -3.0 mm, L= \pm 3.5 mm y DV= -5.0 mm (Páxinos y Watson, 1998). Luego, se realizó un trépano con un diámetro de 1 mm en el cráneo bajo las coordenadas correspondientes, por el cual se administró bilateralmente en el hipocampo ventral un volumen de 0.3µl de ácido iboténico a una concentración de 10mg/ml.

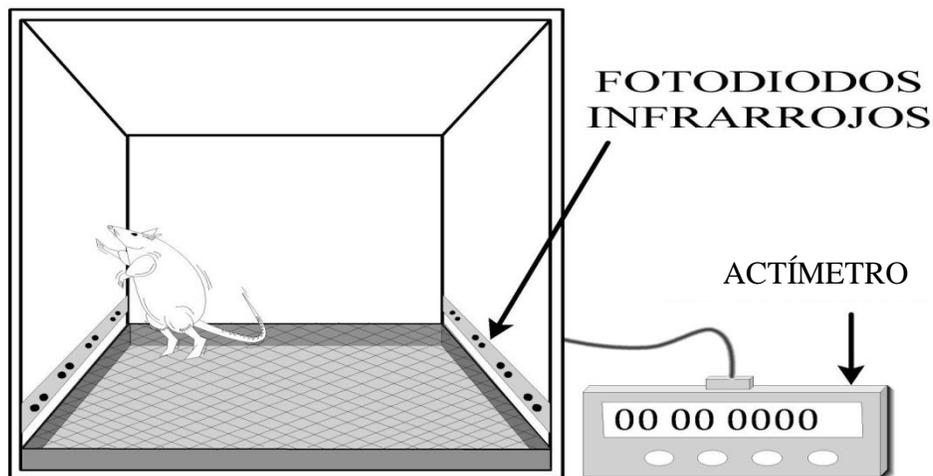
Para el grupo Sham se aplicó el mismo protocolo administrando solo el vehículo, solución amortiguadora de fosfatos. En ambos casos la administración se realizó durante un periodo de 2 min por medio de una bomba de infusión; la cánula se mantuvo por un periodo de 3 minutos más, antes de removerla, para permitir una difusión adecuada del fármaco o vehículo.

Al término de la cirugía se aplicó cera en el orificio realizado, se suturo la incisión y se marcó con tinta china intradérmicamente a las ratas de acuerdo con su grupo. Las ratas neonatas, ya recuperadas e identificadas, se regresaron con su madre hasta el período de ablactación a los 21 días postnatales, posteriormente fueron aisladas en grupos de 2 ratas por caja y mantenidas bajo las condiciones antes mencionadas.

7.2.2 Actividad exploratoria ante ambiente novedoso en campo cerrado

Las ratas fueron colocadas en cajas de acrílico negro de 44 cm de largo, 22 cm de ancho y 22 cm de altura (Fig. 10). Estas cajas tienen instalados 8 pares de fotodiodos en las paredes laterales. El movimiento de la rata interrumpe el haz de luz infrarroja, con lo cual se cuantifica el movimiento. La contabilización de los movimientos se realizó con un contador computarizado que permite registrar el número de movimientos en doce intervalos sucesivos de diez minutos cada uno, con un registro total de actividad motora de dos horas (Flores y cols., 1996).

A



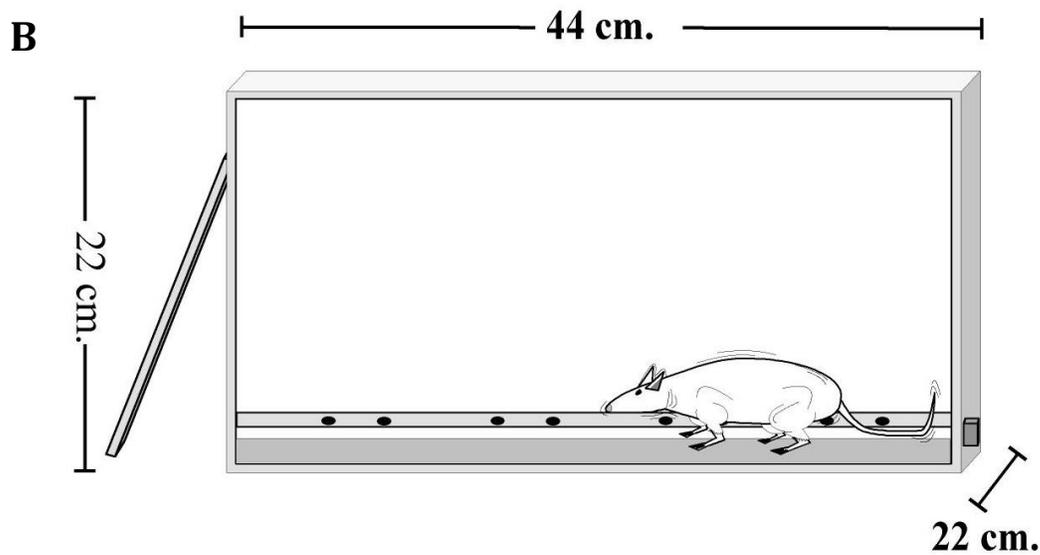


Figura 10. Representación de la actividad locomotora en campo cerrado. A. Vista frontal con actímetro. B. Vista lateral de la caja.

7.2.3. Registro electrocortográfico.

7.2.3.1 Preparación del animal

El registro electrocortográfico se realizó al PD 120 en el cuál las ratas deberían pesar entre 355 y 400 gr. Las ratas fueron anestesiadas con Isoflurano (2%). Una vez anestesiada la rata, se realizó canulación de tráquea para administrar el Isoflurano directamente y en caso de ser necesario ventilar al roedor. Posteriormente, se canuló una de las venas yugulares para continuar con administración de fármacos por dicha vía. En ese momento, se realizó un cambio de anestesia inyectable intravenosa a alfa-cloralosa y bórax. Posteriormente, el animal se fijó en un aparato estereotáxico (Narishige, Scientist Instrument Lab. SN-2N) y se realizó craneotomía y disección de meninges hasta descubrir totalmente la corteza cerebral de la rata.

Los procedimientos para el buen trato de animales de laboratorio se observaron de acuerdo a la NOM-062, durante el desarrollo de las cirugías.

7.2.3.2 Método de registro.

Una vez realizado lo anterior, se colocó un multielectrodo de plata clorurada de punta redonda de 250 micrómetros de diámetro y 12 canales sobre la superficie de la corteza cerebral (Fig. 11) Para posicionar el electrodo de registro se empleó un micromanipulador (Narishge, Scientist Instrument Lab. SN-2N). Las señales obtenidas fueron enviadas a un amplificador Synamps de 32 canales y se empleó el programa de NeuroScan para la adquisición y procesamiento de registros.

Al término del experimento, se efectuó eutanasia a las ratas con sobredosis de cloruro de potasio. El cerebro de cada animal fue extraído para su posterior análisis histológico.

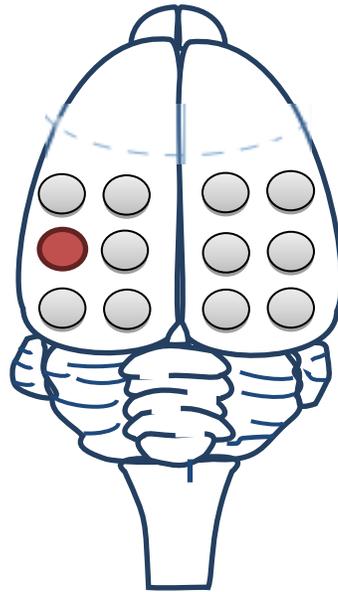


Fig. 11 Esquema del multielectrodo utilizado para el registro de área temporal. En dicho esquema se muestra la organización de los electrodos utilizados, estos fueron ubicados entre cerebelo y Bregma.

7.2.3.3 Protocolo de estimulación Auditiva

La estimulación auditiva se aplicó mediante dos bocinas (posicionados en cada uno del oído de la rata) conectados a neuroscan. Los Estímulos auditivos consistieron en clics con 1 ms de duración a 1Hz de frecuencia (1 segundo entre clics). Se presentaron bloques de 64 segundos para estímulos de 60, 70, 80, 90, 95, 100, 110, 115, 120 dB de amplitud e intervalos de descanso de 1 minuto entre cada bloque.

7.3 Análisis de Resultados de Potenciales Provocados Auditivos.

Se realizó la segmentación del registro en base a los estímulos auditivos, estableciéndose como criterio 0 ms previo al estímulo y 150 ms posterior al estímulo. Posteriormente, se realizó un promedio de la respuesta eléctrica cerebral obtenida ante los estímulos para cada uno de los electrodos. Se corrigió la línea base para cada segmento creándose un archivo final. Con dicho archivo a través del diagrama topográfico se localizó el área de la amplitud máxima del PPA. Una vez identificado el electrodo, se extrajeron los datos numéricos para la amplitud máxima, media y latencia dentro del rango de 30 a 70 ms. Dicho rango de tiempo se estableció de acuerdo al rango de latencia del componente PPA. Por último, con el fin de determinar la localización de los potenciales provocados, se construyeron mapas topográficos de los sujetos.

7.4 Análisis histológico (Tinción de Nissl).

Los encéfalos fueron sometidos a la tinción de Nissl para parte de los análisis histológicos. Se utilizó, 0.5 g de violeta de cresilo (CI 51010), 80 ml de agua destilada, 20 ml de alcohol etílico absoluto con la finalidad de crear la solución *stock*. Una vez disuelta esta, se extrae 45 ml y se añade 15 gotas de ácido acético glacial para obtener la solución de trabajo. Una vez montados los cortes a 50 micras del área a analizar, estos se hidrataron con agua destilada, se colocaron 8 min en la solución de trabajo con la finalidad de teñirlos, se deshidrataron en alcohol al 95% durante dos minutos. Posteriormente se colocaron los cortes en alcohol etílico absoluto durante 2 minutos más para después colocar los cortes en

xileno durante 1 minuto para proceso de aclaramiento y finalmente se montaron los cubreobjetos con resina sintética. Una vez realizado lo anterior se toman microfotografías para el análisis histológico.

7.5 Análisis de estereología.

Otro grupo de ratas (5 animales por grupo), fue anestesiada con pentobarbital sódico (75 mg/kg i.p.), los cerebros de cada una de las ratas fue extraído y colocado en paraformaldehído al 4% en 0.1 M de solución amortiguadora de fosfatos. Un día antes de que dichos cerebros fueran seccionados fueron sometidos a refrigeración en agua destilada, posteriormente, se obtuvieron cortes coronales de 40 μm de grosor al nivel de la corteza temporal mediante un vibratomo (modelo 2000, Leica, Germany). Para la realización del análisis estereológico, cada corte obtenido previamente fue montado en portaobjetos, para después ser sometidos al colorante violeta de cresilo, realizando cada uno de los pasos descritos anteriormente en el protocolo de tinción de Nissl. Una vez que las células estaban teñidas, estas fueron cuantificadas con un microscopio Olympus BH2 acoplado a una cámara digital color CDD, la cual estaba conectada a un sistema analizador de imágenes para estereología (Bioscience Stereo Investigator System). Se realizó la cuantificación de neuronas y células gliales mediante este sistema en 4 secciones de cada uno de los animales, para obtener el valor promedio que nos permitiera comparar a cada uno de los grupos estudiados, dicha cuantificación se realizó en un área de 900 μm^2 y considerando una profundidad del tejido de 10 μm para cada una de las regiones estudiadas.

7.6 Análisis morfológico de Sholl.

Una vez localizada la corteza temporal primaria y secundaria en las ratas, se eligen 5 neuronas piramidales de la corteza temporal de capa 3 de ambos hemisferios y por rata. Estas neuronas presentan un soma triangular de alrededor de 20 μm de diámetro y un árbol dendrítico basal claramente identificable, una dendrita apical de mayor grosor que el resto y que se extiende hacia la superficie cortical y posicionada más externamente. Se dibujan empleando una cámara lúcida acoplada a un microscopio óptico (Leica, DMLS), a una magnificación de 40X (Fig. 12). Una vez obtenidos los dibujos se realiza el análisis de Sholl, el cual consiste en sobreponer una lámina transparente con una serie de círculos

concéntricos con un equivalente de $10\ \mu\text{m}$ de separación; esta plantilla es colocada sobre el dibujo de la neurona y el número de círculos que intersece cada dendrita es usado para estimar la longitud dendrítica total (LDT) y la arborización dendrítica. Para estimar el número total de ramificaciones dendríticas desde el soma (indicado por el número de bifurcaciones) se cuenta cada número de orden a partir del soma. Las que se originan en el soma son de 1er orden, las que se originan de éstas son de 2do orden y así sucesivamente, para tener la longitud por número de orden.

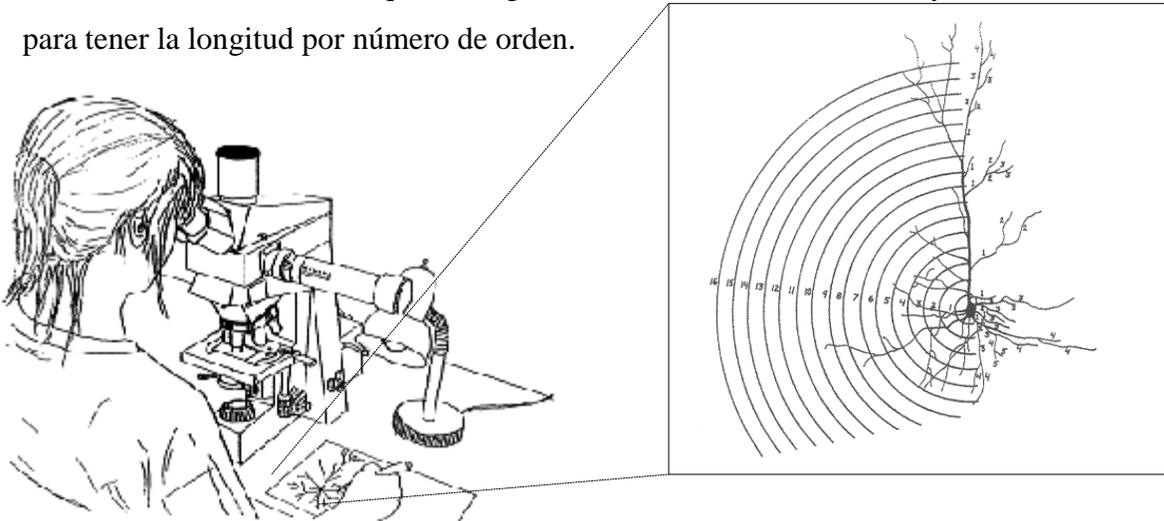


Figura 12. Dibujo con cámara lúcida. Se muestra la observación y trazado de neuronas empleando la cámara lúcida acoplada al microscopio óptico. En la plantilla de círculos concéntricos, usada en el análisis de Sholl, cada círculo está calibrado de modo que la distancia entre ellos es de $10\ \mu\text{m}$ (tomada de Kolb y cols., 1998)

8. Resultados.

8.1 Actividad exploratoria DP 60.

A la edad de 60 días posnatales, se evaluó la actividad exploratoria ante un ambiente novedoso en campo cerrado, encontrando que los animales con LnHV en promedio presentaron mayor actividad locomotora ante ambiente novedoso que los animales *sham* (ANOVA de una vía, $p < 0.001$; Fig., 13). Las ratas con LnHV siempre mostraron mayor actividad motora durante toda la prueba.

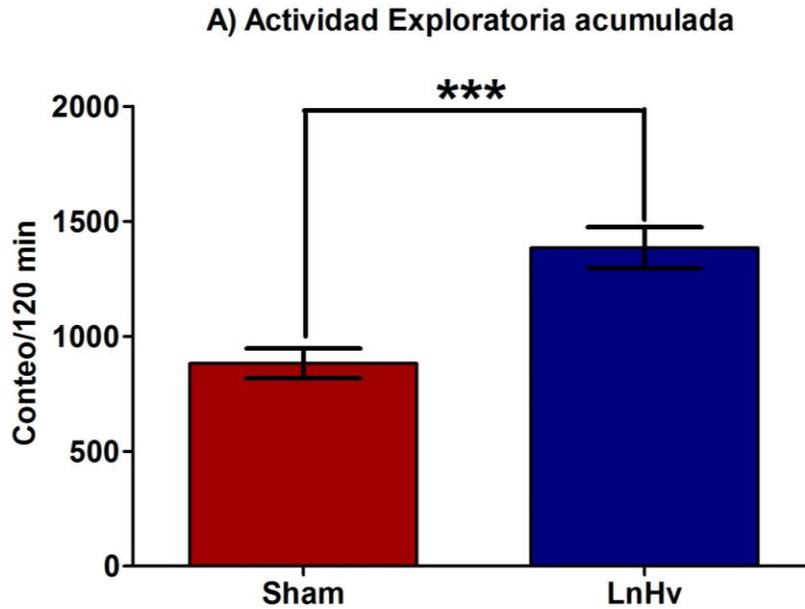


Fig. 13. Resultados de actividad exploratoria en campo cerrado. ANOVA de una vía mostró que la locomoción que fue significativamente afectada por la lesión del hipocampo ventral tanto en el análisis de actividad acumulada (A).

8.2 Localización de los potenciales provocados auditivos.

Para el registro de los PPA se utilizó un arreglo de 12 electrodos ubicados entre la línea bregma del cráneo de la rata y la línea del cerebelo. Una vez obtenida la respuesta se elige la zona con actividad eléctrica de mayor amplitud para los análisis estadísticos posteriores. En la Fig. 14 se muestra un esquema ilustrativo para algunos de los sujetos estudiados, marcando de color rojo el electrodo con mayor actividad eléctrica.

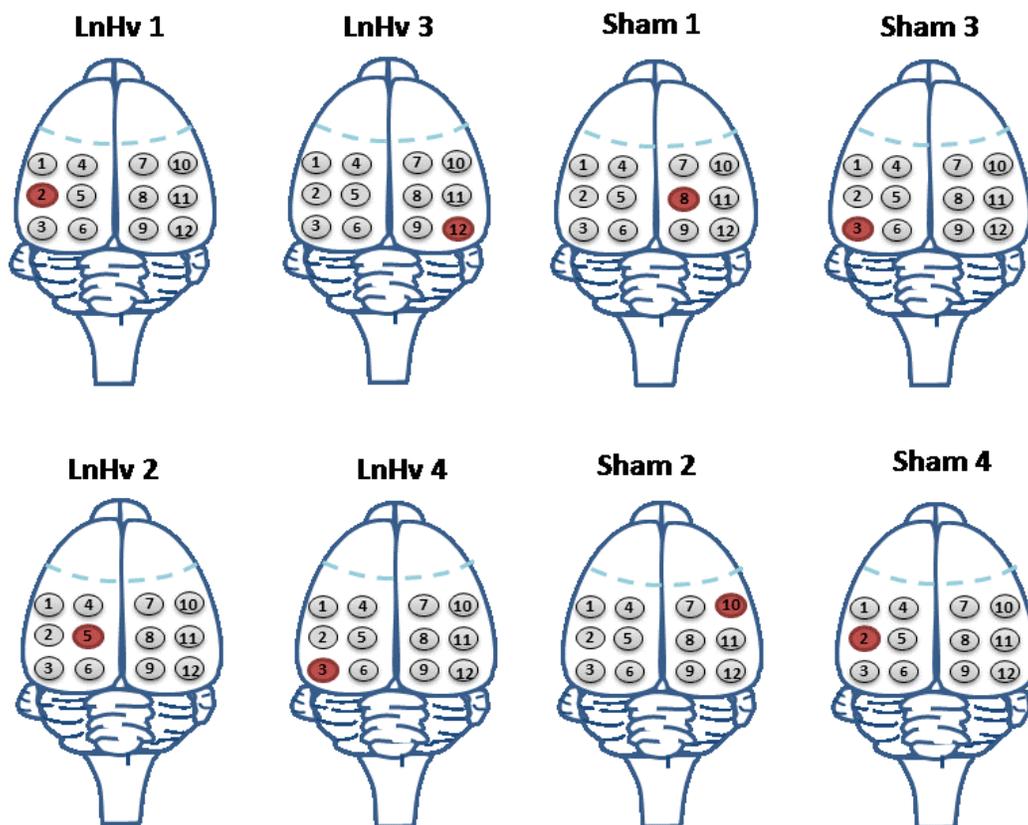


Fig. 14. Esquema de la máxima amplitud del potencial provocado auditivo (PPA). Se ilustra con color rojo el electrodo identificado con mayor amplitud de la respuesta provocada.

Una vez reconocida el área de mayor actividad eléctrica, se visualizaron los potenciales provocados para cada uno de los diferentes tipos de estimulación, estos fueron segmentados 0-150ms después del estímulo. En todos los sujetos analizados se obtuvo la respuesta provocada ante diferentes tipos de estimulación. En la Fig. 15 se muestran registros de PPA obtenidos ante la estimulación de 80, 100 y 120 dB en algunos de los sujetos de estudio. En todos los casos la amplitud máxima del potencial fue mayor para los sujetos con lesión falsa.

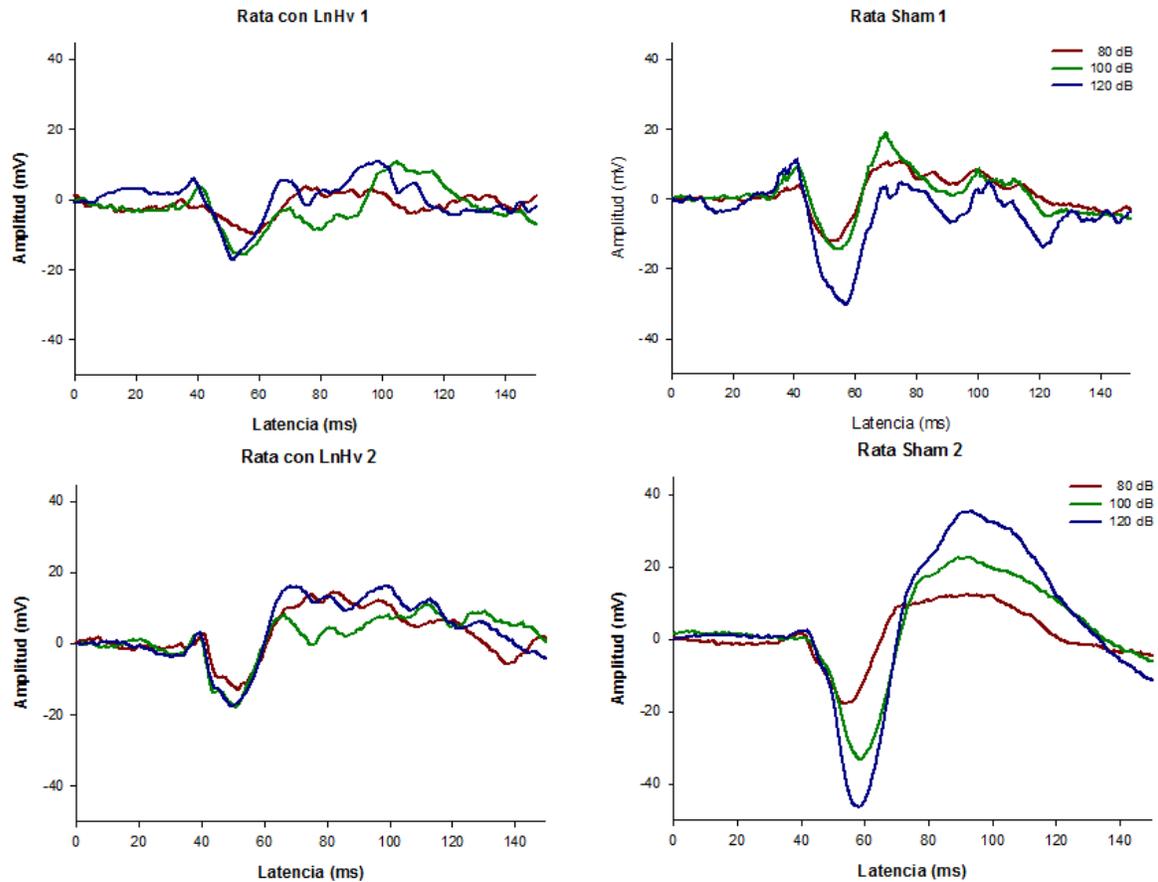


Fig. 15. Gráfica de potenciales provocados auditivos obtenidos ante estímulos de 80, 100 y 120 dB para ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral (LnHV) y lesión falsa (sham). En el eje de las abscisas, se representa el tiempo en ms, desde la aplicación de los estímulos auditivos, hasta 150 ms después de éstos. En el eje de las ordenadas se muestra la amplitud en mV del potencial registrado. En todos los casos, la amplitud máxima del PPA fue mayor para las ratas Sham y ratas LnHV.

Con la información de cada una de las ratas se determina el promedio grupal de los potenciales provocados para su posterior análisis (Figura 16).

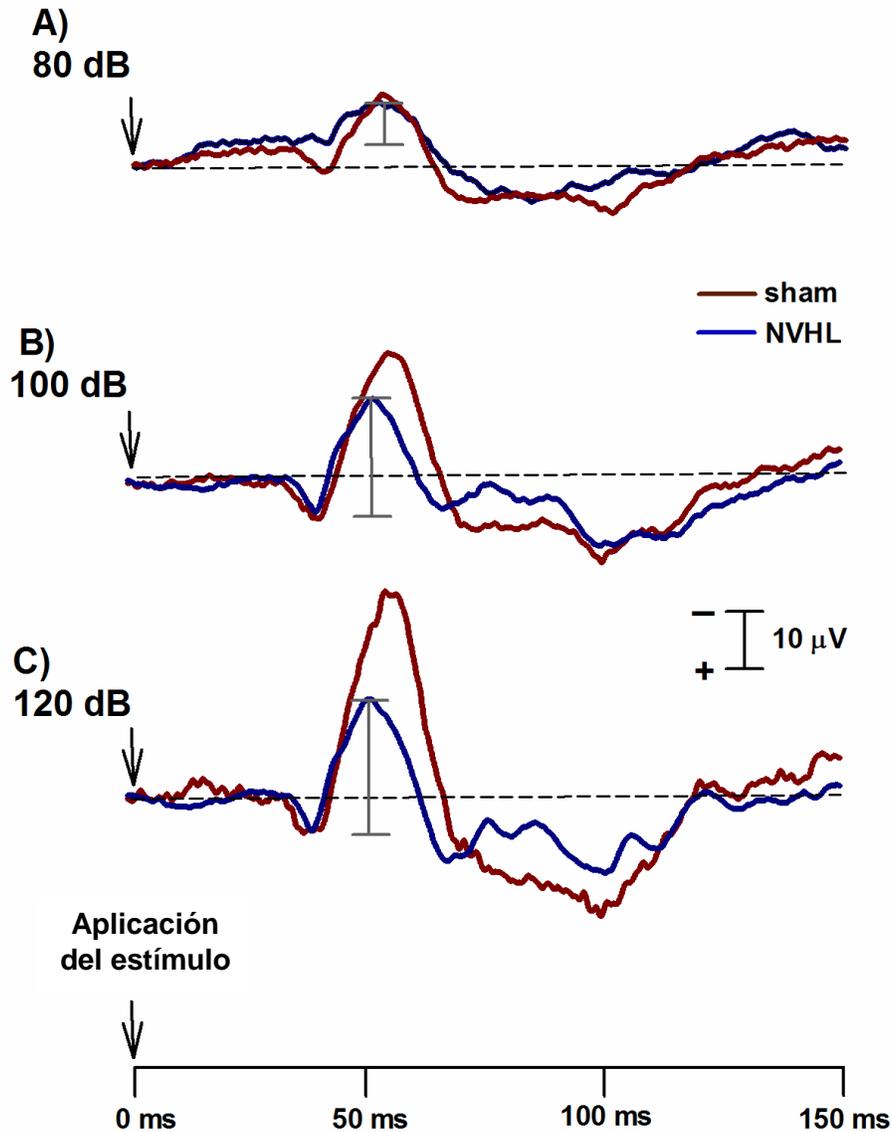


Fig. 16. Gráfica de potenciales provocados auditivos (PPA) obtenidos ante estímulos 80, 100 y 120 dB promedio del grupo de ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral (LnHV) y lesión falsa (sham). En el eje de las abscisas, se representa el tiempo en ms, desde la aplicación de los estímulos auditivos, hasta 150 ms después de éstos. En el eje de las ordenadas se muestra la amplitud en μV del potencial registrado.

8.3 Curva entrada-salida del PPA ante diferentes intensidades de estimulación auditiva.

Con el promedio de los PPA obtenidos en cada sujeto se construyó una curva-entrada salida para cada uno de los sujetos ante los diferentes niveles de estimulación (80, 90, 95, 100, 110, 115, 120 dB). Esto con la finalidad de comprobar si estos siguen una distribución

sigmoidea. La distribución sigmoidea de los datos es importantes para determinar la eficacia del protocolo empleado para generar PPA, así como para identificar el umbral de sensación. Se aplica una prueba de ajuste sigmoidea de dos parámetros encontrando que estas siguen dicha distribución (Prueba de Ajuste Sigmoideo dos parámetros, $R>0.90$, $p<0.001$ para todos los casos). En la Fig., 17 de manera ilustrativa se muestran curvas de entrada-salida para algunos de los sujetos de estudio. Las ratas con LnHV mostraron menores amplitudes ante todos los estímulos con respecto a los sujetos sham.

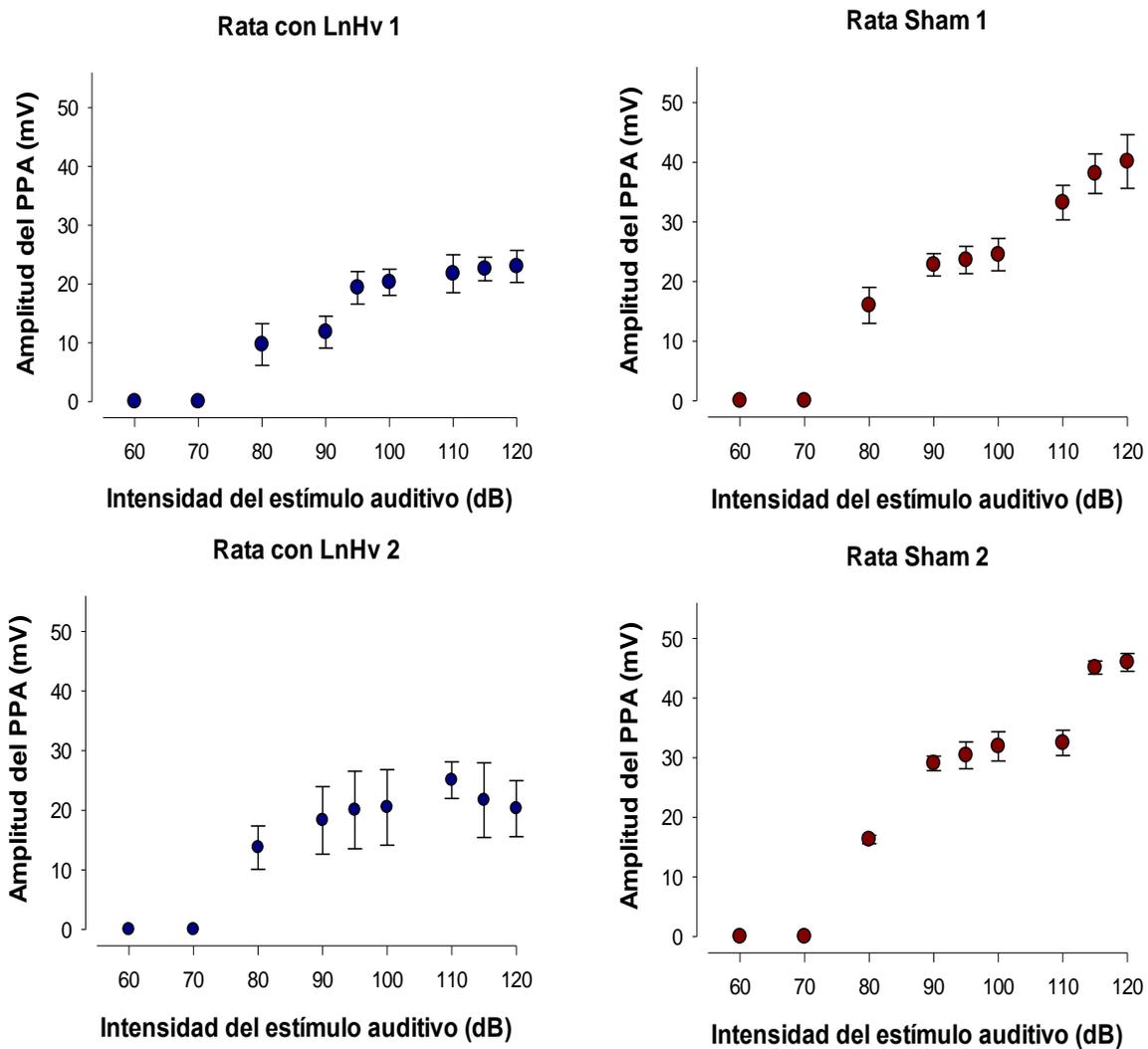


Fig. 17 Gráfica de la curva-entrada salida de la amplitud máxima del potencial provocado auditivo (PPA). En dicha gráfica se representa el promedio y el error estándar de la amplitud máxima del PPA ante diferentes intensidades del estímulo auditivo. En todos los casos, se identifica una distribución sigmoidea (Ajuste sigmoideo de dos parámetros, $R>0.90$, $p<0.0001$)

8.4 Comparación de las curvas entrada-salida de la amplitud máxima para el grupo de ratas con LnHv y Sham.

Se construyeron curvas de entrada-salida de la amplitud máxima del PPA con las medias grupales para cada una de los estímulos estudiados (80, 90, 95, 100, 110, 115, 120 dB). Lo anterior con la finalidad de encontrar diferencias significativas en la máxima amplitud del PPA, para esto se realizó la Prueba U de *Mann-Whitney*. Las ratas con lesión Sham para todos los casos obtuvieron mayor amplitud en el potencial; sin embargo, estos cambios solo fueron significativos para los estímulos de 90, 95, 100, 110, 115, 120 dB ($p < 0.05$; Fig., 18).

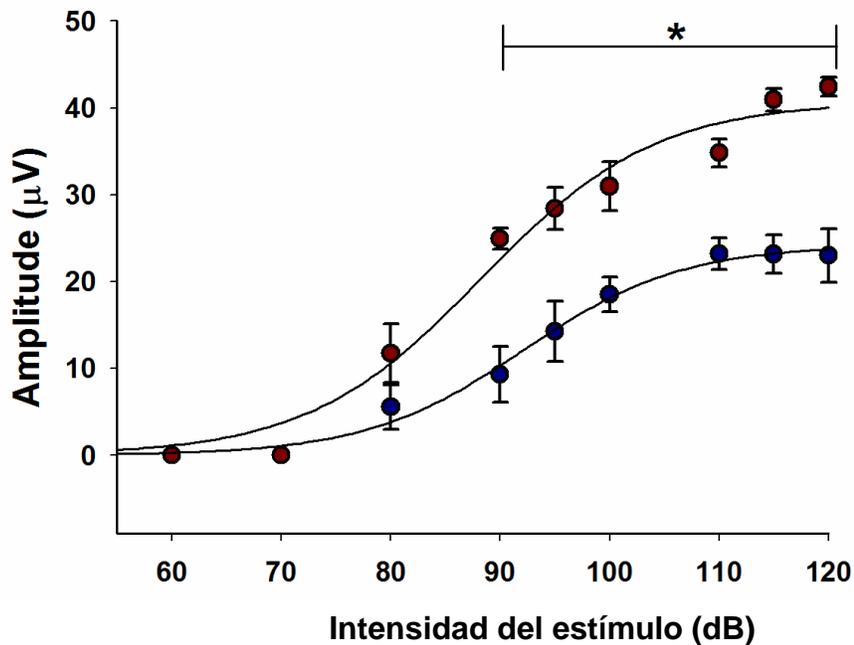


Fig. 18 Curva entrada-salida del potencial provocado auditivo (PPA) para el grupo de ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral (LnHV) y lesión falsa (sham). En dicha gráfica se representa el promedio y el error estándar de la amplitud máxima del PPA para ambos grupos ante diferentes intensidades del estímulo. En el rango de 90-120 dB, la amplitud máxima del PPA fue mayor para las ratas con lesión falsa ($P < 0.05$).

8.5 Comparación de la latencia del PPA entre el grupo LnHV y Sham.

Se compararon las latencias entre los grupos ante los diferentes tipos de estimulación del PPA. No se encontraron diferencias significativa entre el grupo con LnHV y Sham (*U* Mann-Whitney, $p > 0.05$; Fig. 19).

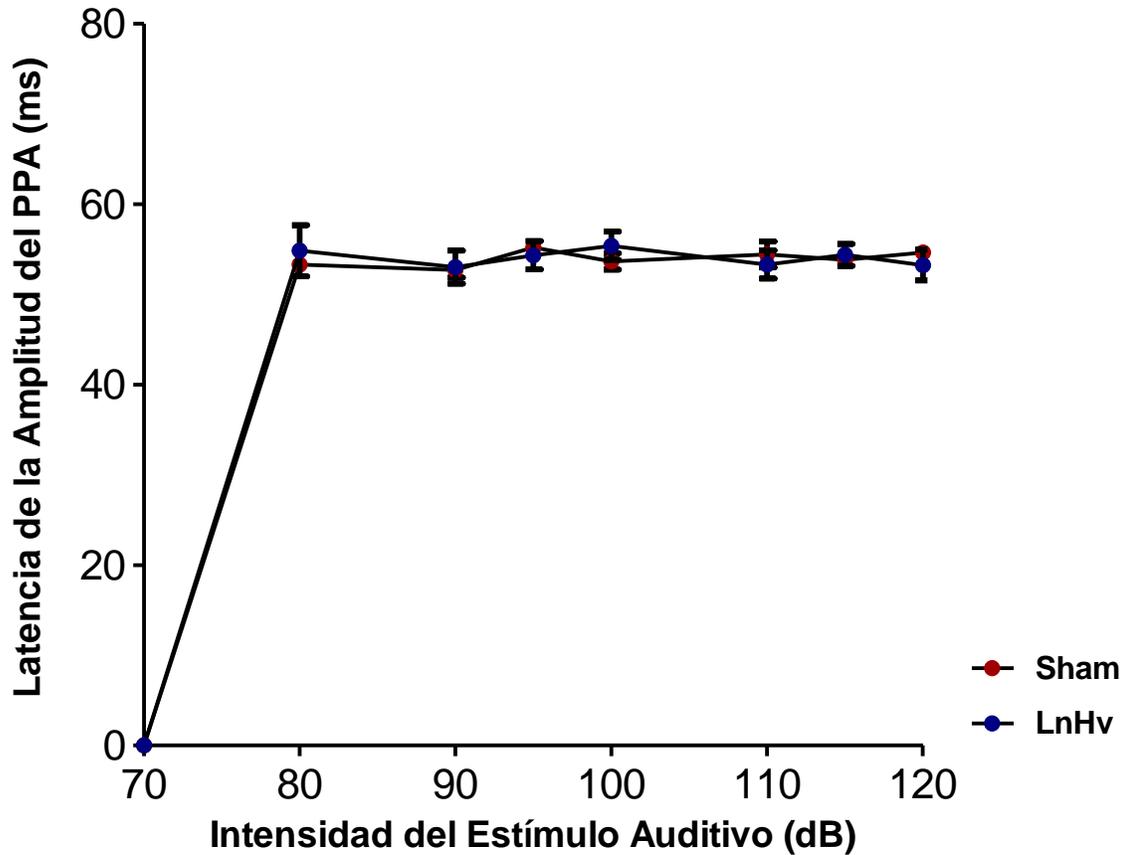


Fig. 19. Gráfica de comparación de latencia del potencial provocado auditivo (PPA). En dicha gráfica se ilustra la latencia media para cada grupo ante diferentes tipos de intensidad de estimulación. En todos los casos, no hubo diferencias significativas ($p > 0.5$).

8.6 Análisis de densidad neuronal y células gliales por estereología.

Se realizó un análisis cuantitativo para estimar el número de neuronas y células gliales de la corteza temporal primaria y secundaria de la rata con lesión neonatal de hipocampo ventral y de la rata con lesión falsa. Esto con la finalidad de relacionar los cambios anatómicos presentes en el modelo con los déficits fisiológicos de la corteza temporal de estas ratas.

Los análisis estereológicos de la corteza temporal primaria y secundaria impregnadas con violeta de cresilo utilizando la técnica de tinción de Nissl se muestran en la fig. 20. La cuantificación de neuronas realizadas en esta área muestra una reducción del 40% en el número de neuronas en la rata con LnHV para el hemisferio derecho y una reducción del 38% para el hemisferio izquierdo (Fig. 21; *t Student*, $P < 0.05$)

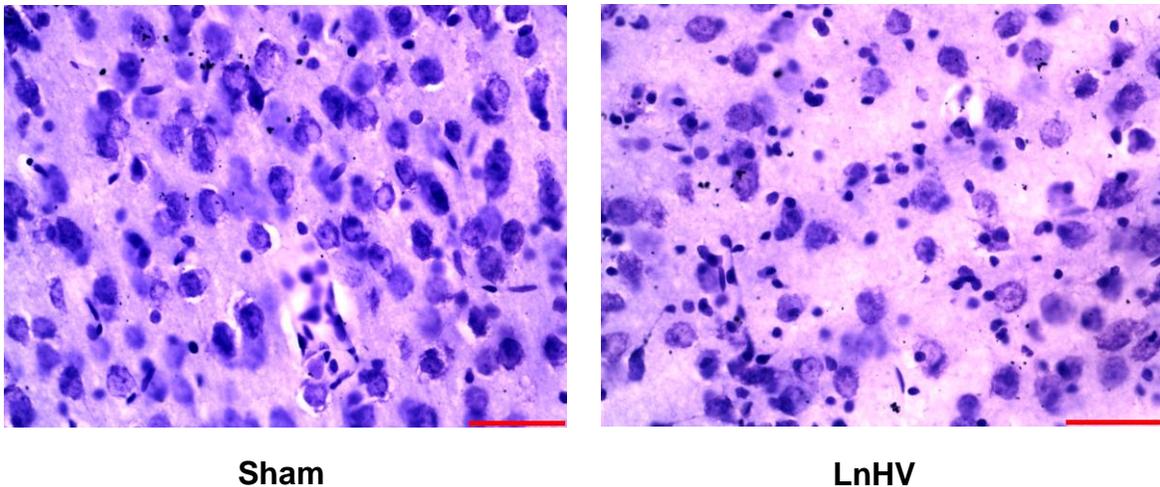


Fig. 20 Fotomicrografías de la corteza temporal de las ratas de estudio. Se muestra neuronas teñidas con violeta de cresilo mediante la tinción de Nissl en cada uno de los grupos estudiados.

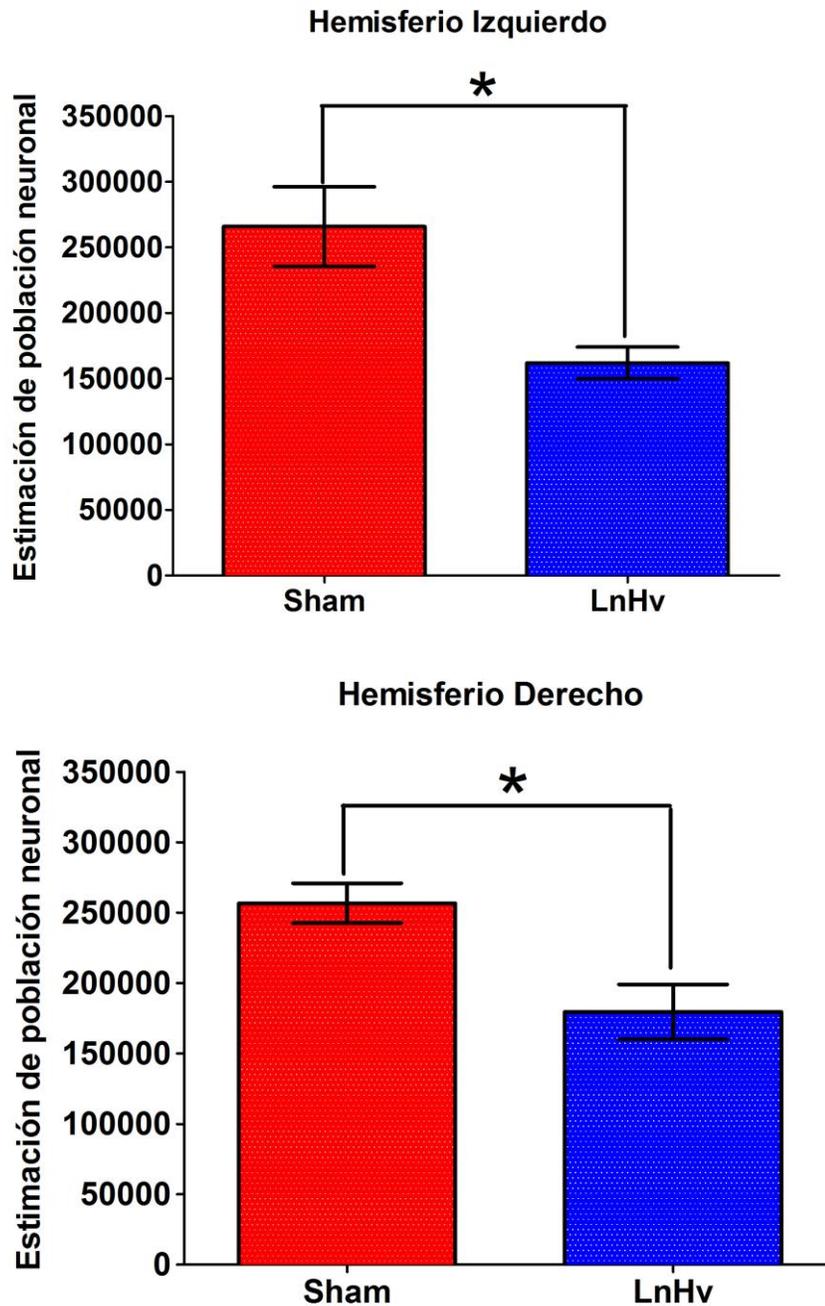


Fig. 21 Gráfica de comparación de la densidad poblacional de neuronas de la corteza temporal por hemisferio. En dicha gráfica se muestra la densidad de población para cada grupo de estudio así como el error estándar (ver métodos). Se observa una disminución de neuronas para las ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral (LnHV) en comparación con ratas con lesión falsa (sham).

Considerando ambos hemisferios se realizó un conteo total de neuronas encontrando una disminución del 40% para las ratas con LnHV en comparación a las ratas con lesión falsa (Fig. 20; *t Student*, $p < 0.05$).

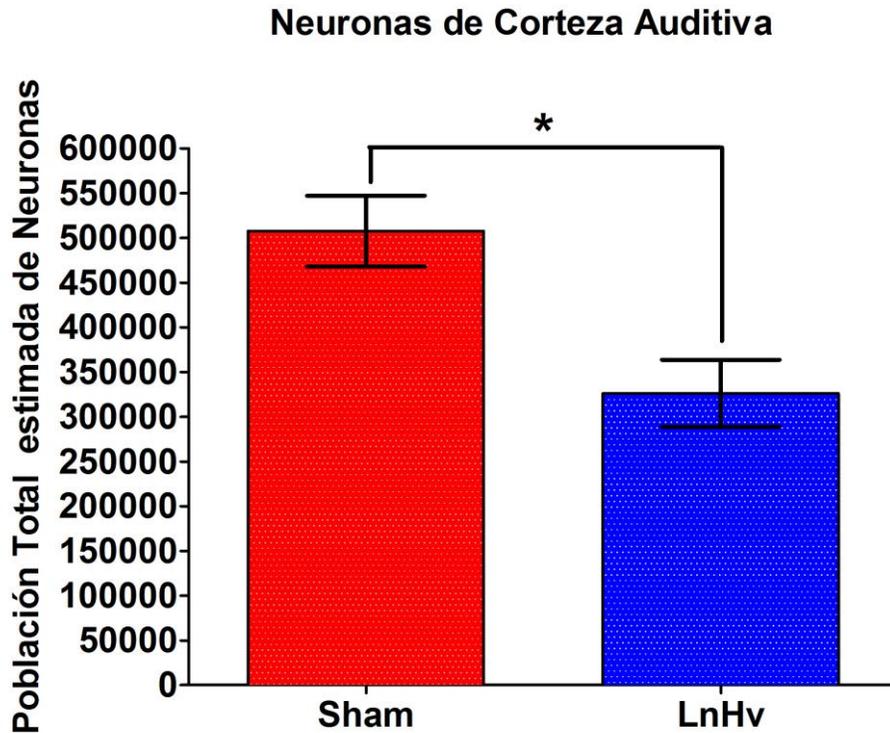


Fig. 20 Gráfica de comparación de la densidad poblacional de neuronas de la corteza temporal. Se muestra la densidad poblacional de neuronas para cada grupo, así como el error estándar. Se observa una disminución de neuronas para las ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral (LnHV) en comparación con ratas con lesión falsa (sham) ($p < 0.05$).

Del mismo modo se realizó la cuantificación de las células gliales para cada uno de los grupos de estudio, se detectó que las ratas adultas con LnHV muestran un aumento del 210% en el número de células gliales en la corteza temporal (Fig. 21; $p < 0.05$)

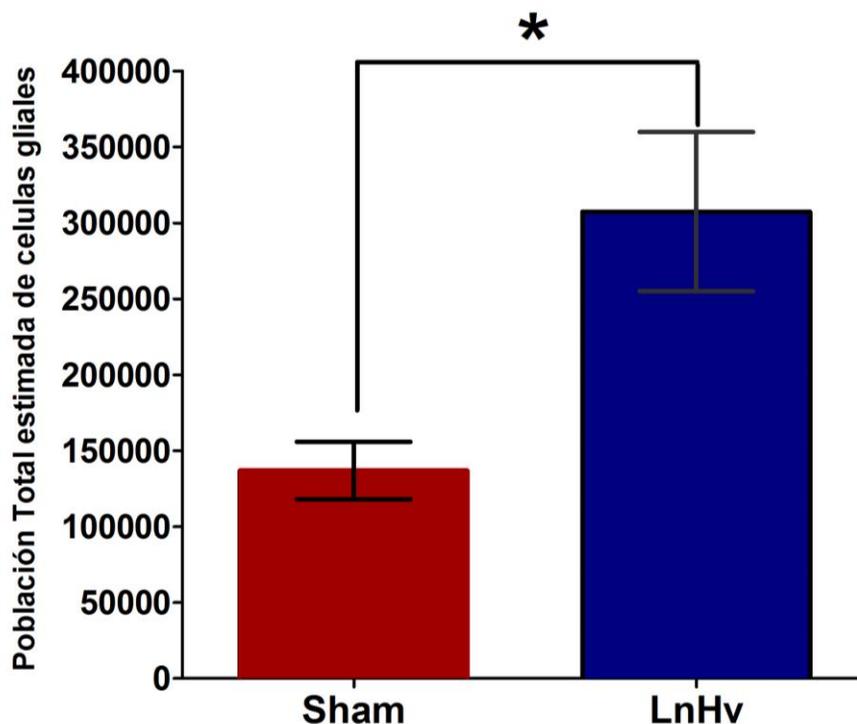


Fig. 21 Gráfica de comparación de la densidad poblacional de células gliales de la corteza temporal. Se muestra la densidad poblacional de las células gliales para cada grupo así como el error estándar. Se observa un aumento de estas células para las ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral (LnHV).

8.7 Análisis de correlación entre el número de células de la corteza temporal y la amplitud máxima del potencial provocado auditivo para ratas con LnHV y ratas con lesión falsa.

Basada en el hallazgo de que las ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral presentan menores amplitudes en el potencial provocado al evento y menor número de células que conforman la corteza temporal en comparación a las ratas con lesión falsa, nos interesó investigar las características de dichas diferencias significativas. Se realizó una prueba de Correlación de Pearson con la finalidad de buscar si existía una relación entre dichas variables. Cabe mencionar que para dicho análisis se utilizó el promedio del potencial provocado auditivo obtenido ante la estimulación de 120 dB, así como el promedio del número de células que conforman ambos hemisferios de la corteza temporal para cada grupo. Se encontró una correlación significativa negativa ($r=0.67$, $p=0.04$, $gl=7$; Fig., 22), esto significa que si el número de neuronas disminuye, la máxima amplitud del potencial

también. En otras palabras, entre menor número de neuronas menor amplitud del potencial auditivo.

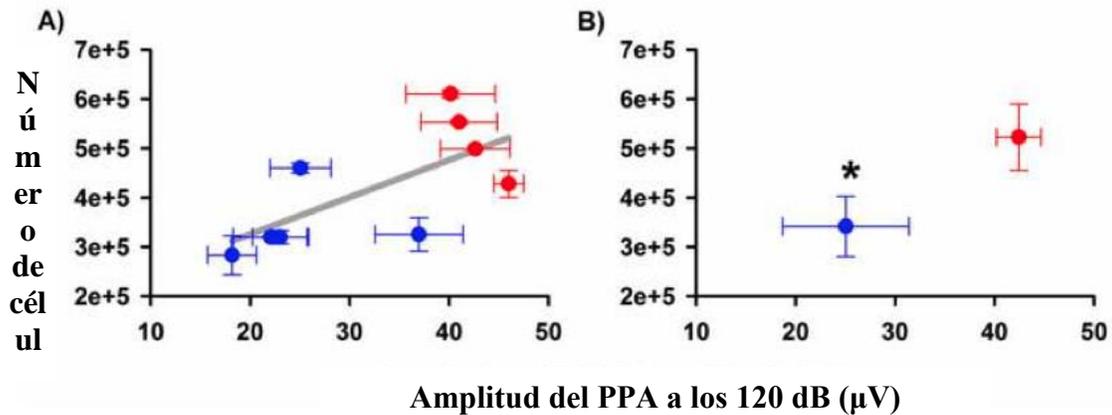
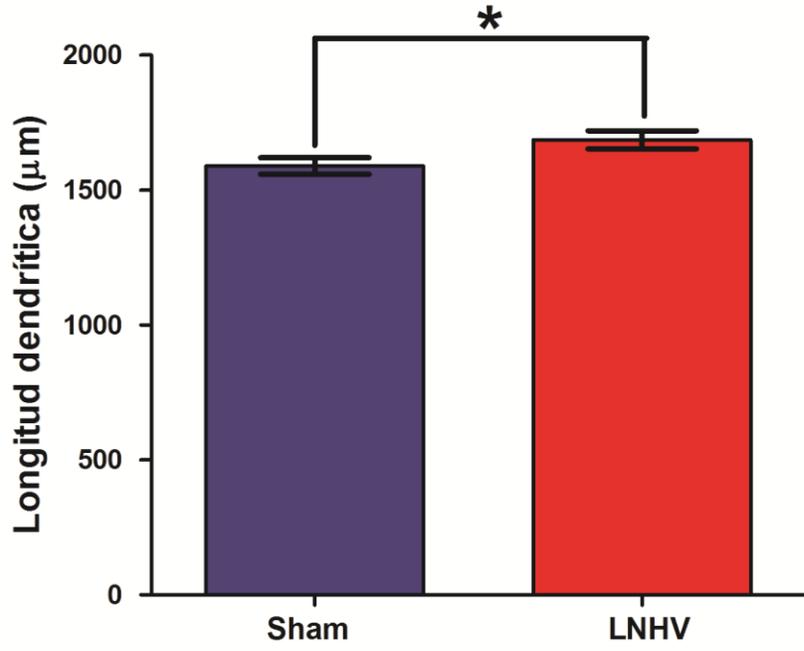


Figura 22. Amplitud del potencial provocado auditivo (PPA) inducida por estímulos auditivos a 120 dB en relación con la media del número de células que se encuentran en los dos hemisferios de la corteza temporal auditiva en ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral (LnHV) (círculos azules) y ratas sham (círculos rojos). Se encontró un coeficiente estadísticamente significativo de correlación de Pearson de $r = 0.67$ con una $p = 0.04$, y 7 grados de libertad (línea gris). B) Los valores medios de los datos agrupados se ilustran en el panel (A); el círculo azul es para las ratas LnHV y el círculo rojo para ratas sham, respectivamente. Los análisis estadísticos indican significativamente menor número de células ($* p < 0.001$) y una disminución significativa de la amplitud del PPA ($* p < 0.05$) para las ratas NVHL en comparación con las ratas sham.

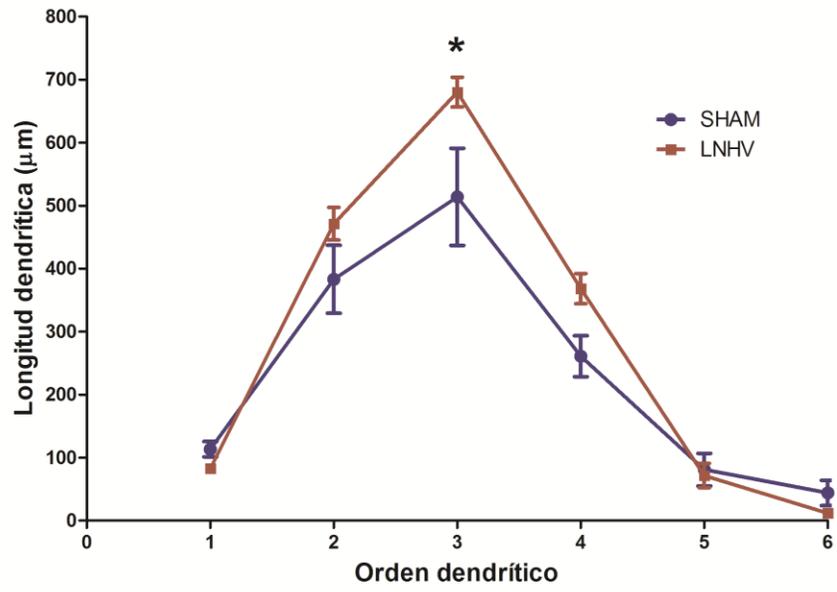
8.8 Análisis morfológico de Sholl.

Se midió la longitud dendrítica total de las neuronas piramidales de la corteza temporal de la capa III encontrando que los animales con LnHV presentan un aumento significativo en la longitud dendrítica, respecto de los animales sham (Fig.23A; *t Student*, $P < 0.05$). Dicho aumento se mantiene a lo largo de los órdenes dendríticos de toda la neurona (Fig. 22C); sin embargo, este cambio se presentó fundamentalmente en las dendritas de 3er. orden (Fig. 23B; ANOVA de dos vías, $P < 0.05$).

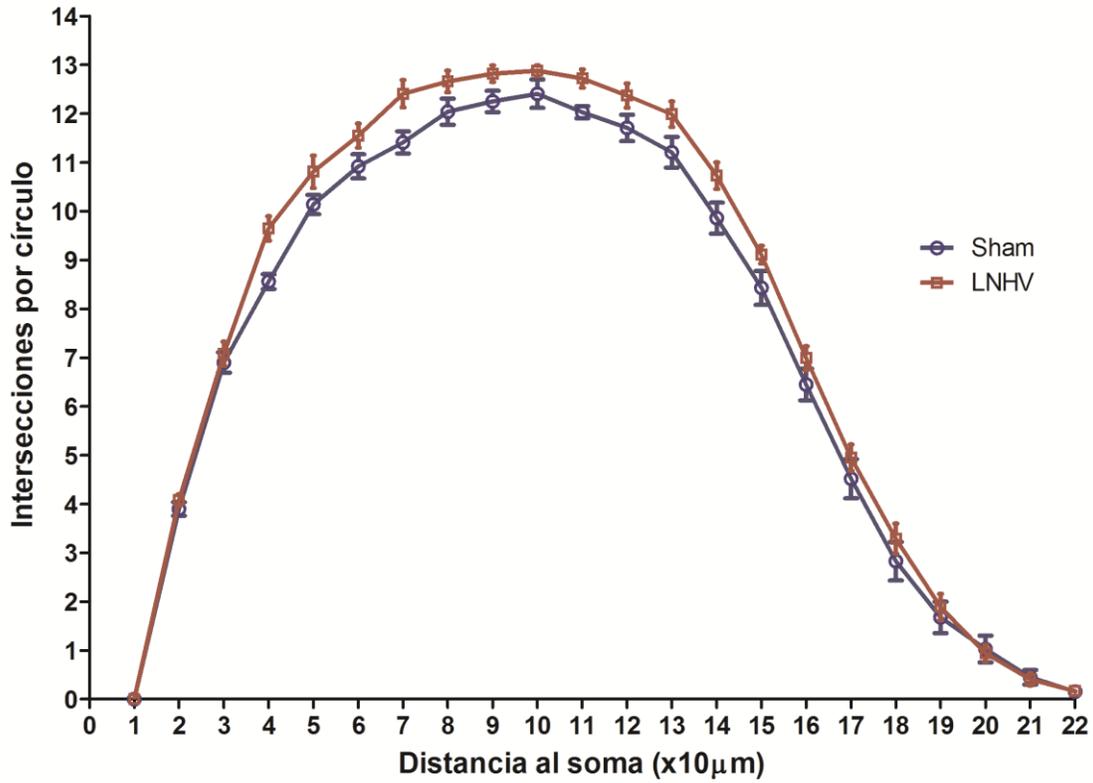
A)



B)



C)



D)

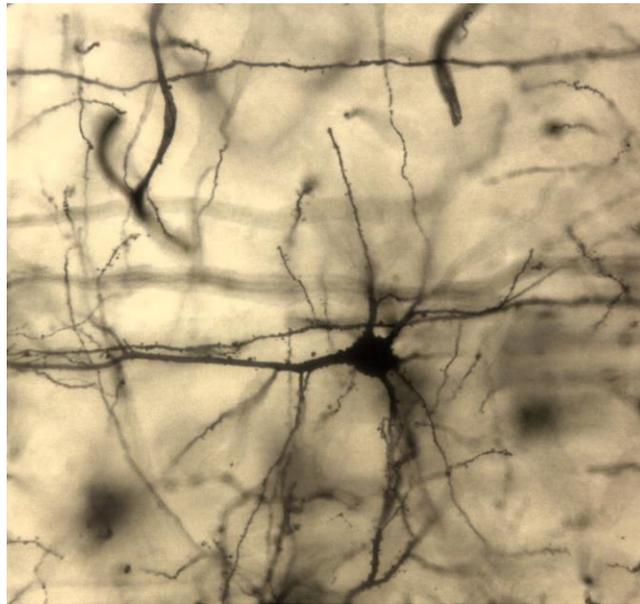


Fig. 23. Aumento de longitud dendrítica de la corteza temporal para ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral (LnHV). La lesión indujo un aumento de la longitud dendrítica total de neuronas piramidales de la corteza temporal (A) El aumento fue claramente observado a nivel de las dendritas de 3er. orden (B). La tendencia se mantiene a lo largo de la neurona (C). En D, se muestra una neurona piramidal característica de la región en el estudio.

8.9 Verificación de la lesión.

Los cortes histológicos coronales obtenidos de los animales LnHV a edad adulta (PN90) fueron teñidos con violeta de cresilo mediante la técnica de tinción de Nissl. Esto permitió observar el daño bilateral provocado por la lesión realizada con el ácido iboténico en el hipocampo ventral (Fig. 24). Únicamente los animales con lesión bilateral en el hipocampo ventral fueron incluidos en este estudio. Los cerebros de los animales controles no muestran alteraciones morfológicas a este nivel.

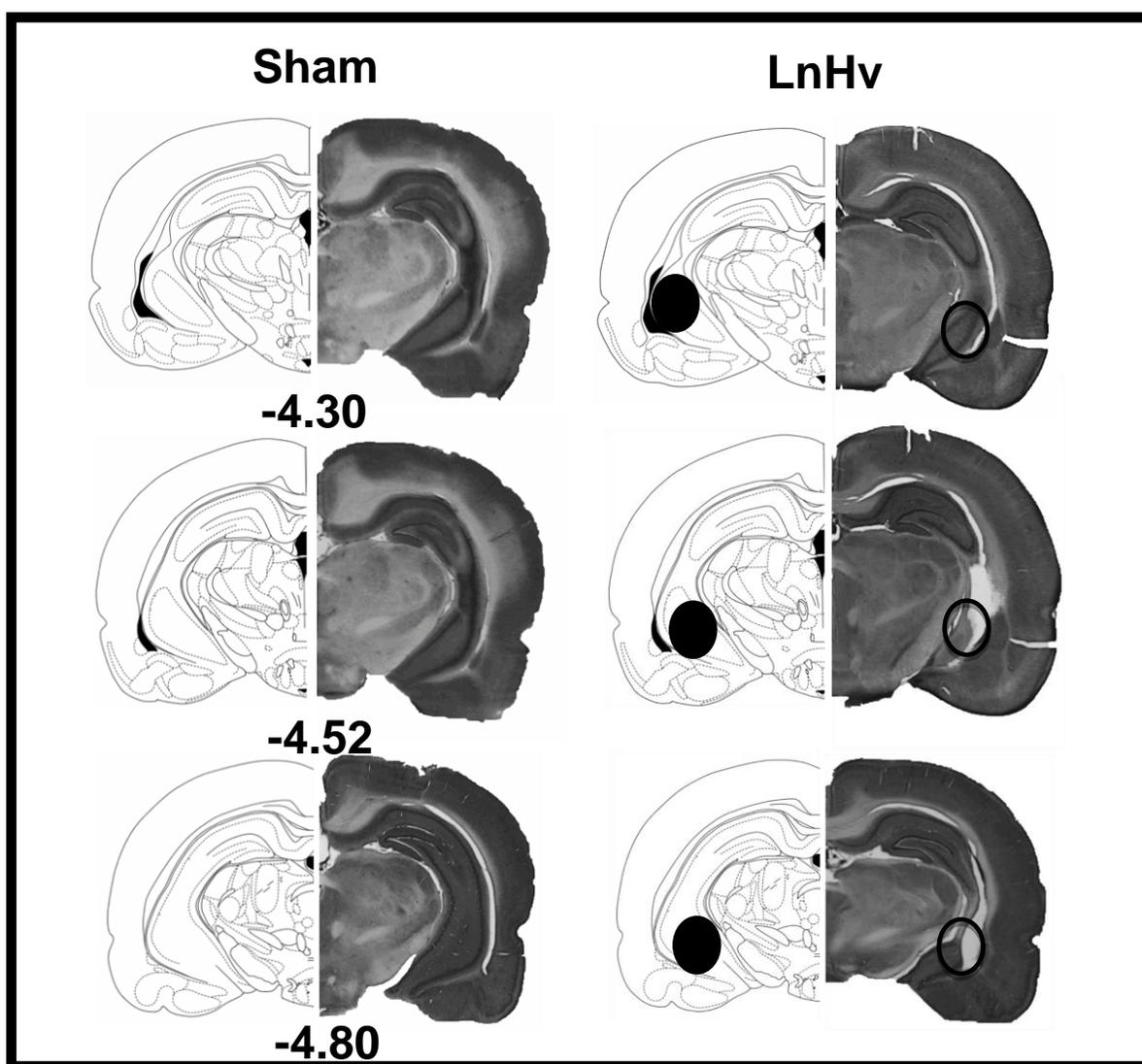


Fig. 24 Dibujos esquemáticos de cortes coronales de rata con lesión neonatal de hipocampo ventral (LnHV) teñido con violeta de cresilo a nivel del hipocampo ventral en donde se muestra una retracción de tejido, gliosis y pérdida neuronal a edad adulta (PN90). Los círculos indican la zona de la lesión. Los números indican la distancia (mm) posterior a bregma (Paxinos y Watson, 1986)

10. Discusión

Los resultados presentados en este trabajo han demostrado que la lesión neonatal de hipocampo ventral produce alteraciones en la corteza temporal auditiva de estas ratas, en los potenciales provocados auditivos, en la densidad de neuronas, de células gliales y la arborización dendrítica de neuronas que conforman la corteza temporal.

La prueba de actividad locomotora es una prueba utilizada en modelos animales. Es una herramienta conductual para analizar respuestas anormales aumentadas ante un ambiente novedoso que se observa en pacientes con esquizofrenia (Lipska y Weinberg, 1995). Se observó un aumento en la actividad exploratoria en las ratas adultas con lesión neonatal de hipocampo ventral. Estos hallazgos coinciden con los reportados por Alquicer y cols., 2008; Flores y cols., 2005; Flores y cols., 1996, entre otros. El aumento de la actividad exploratoria en nuestras ratas lesionadas puede explicarse por 1) déficits de la maduración de las proyecciones dopaminérgicas mesocorticales, 2) un mayor tono dopaminérgico en el núcleo accumbens a consecuencia de exposición a estrés (Brake y cols., 2000). Por otra parte, se ha reportado que esta alteración podría deberse a un decremento en expresión de los receptores dopaminérgicos D3 (Flores y cols., 1996). Cabe mencionar, que el aumento en la neurotransmisión dopaminérgica se describió primero en los pacientes esquizofrénicos, lo que ha dado origen a la hipótesis dopaminérgica de la etiología de la esquizofrenia, que pretende explicar, en parte, la sintomatología positiva de la enfermedad.

En la investigación sobre la etiología de la esquizofrenia se ha aceptado la idea de que este es un trastorno de “desconectividad” anatómica de múltiples circuitos corticales. Las personas con esquizofrenia presentan un déficit de la integración funcional en el cerebro. La integración funcional se refiere a las interacciones de los sistemas funcionalmente especializados, es decir, las poblaciones de neuronas, las áreas corticales y sub-áreas, que se requieren para la integración adaptativa sensomotora, síntesis de la percepción y la cognición. La integración funcional es mediada por la influencia de la actividad neuronal que un sistema ejerce sobre el otro, y por lo tanto, se basa en las conexiones entre ellos. El patrón de la conectividad está, a su vez, en función de la epigenética, la actividad y la plasticidad dependiente de la experiencia (Serra-Gonzales, 2012).

Por medio de estudios EEG se han observado patrones anormales tanto en el reposo como durante la realización de una tarea (Koukkou y cols., 1993), así como alteraciones en procesos sensoriales de información y reducciones en las amplitudes de los potenciales provocados auditivos (Jansen y cols., 2010).

En la presente tesis, se examinó el PPA en ratas con LnHV, tema totalmente inexplorado en este modelo animal. Se evidenció que las ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral presentan reducciones en la amplitud del potencial provocado auditivo N40. Este hallazgo ya ha sido descrito en pacientes con esquizofrenia (Rosburg, 2004). Esto sugiere que la LnHV replica la alteración funcional de los circuitos cerebrales relacionados al procesamiento de información acústica.

Macedo y cols., en el 2010, observaron un incremento en la amplitud máxima del potencial provocado auditivo en los colículos inferiores de ratas con LnHV. Sin embargo, los datos de la presente tesis muestran lo contrario para los registros de PPA en la corteza temporal de estas ratas. Esto sugiere la hipótesis de que la vía auditiva de las ratas con LnHV se encuentra afectada a nivel del circuito talámico-cortical y no a nivel del primer relevo auditivo-colicular. Dicha hipótesis es consistente con lo reportado por Chambers y cols., 1996; Swerdlow y cols., 2011 y Macedo, 2010, quienes observaron depósitos de calcio cerca del área de lesión, principalmente en la zona del tálamo auditivo, lo que implica pérdida del número de neuronas y una inervación inapropiada en la vía talámico-cortical (Flores y cols., 2005; François y cols., 2009 y Tseng y cols., 2008).

Al lesionar el hipocampo ventral en edades neonatas ocurre una afectación de la función de otras regiones cerebrales asociadas; por ejemplo, la corteza temporal primaria. Esto se debe a que la porción CA1 del hipocampo envía efectos neurotróficos de glutamato a la corteza temporal primaria (Cenquizca y cols., 2007). Ello es relevante en el contexto del desarrollo, ya que se ha documentado que hay una influencia trófica del hipocampo sobre el sistema auditivo (Bardgett y Henry, 1999; Halim y Swerdlow, 2000; Flores y cols., 2005; François y cols., 2009 y Tseng y cols., 2008).

Por otra parte, se pudo corroborar que la LnHV no produce alteraciones en la latencia media del PPA. Cabe recordar, que la latencia nos indica el índice de velocidad de la detección y procesamiento del estímulo auditivo a lo largo del SNC (Rugg y Coles, 1995). Al no existir estudios similares a este, podemos especular, que la velocidad con que la información acústica es transmitida no se encuentra aletargada.

Si bien, se ha demostrado que el PPA se encuentra alterado en su amplitud pero no en la latencia. Esto podría indicar que el número de neuronas que participan en la generación de la amplitud del PPA se encuentran comprometidas. Esta hipótesis pudo ser corroborada a través de estudios de estereología. La estereología es un conjunto de métodos diseñados para la realización de un riguroso análisis cuantitativo de tamaño, forma y número de células. A través de esta técnica podemos conocer el estado anatómico funcional de un sistema.

Las ratas con LnHV presentan una reducción del 40% en el número de neuronas que conforman la corteza temporal primaria y secundaria en comparación a ratas con lesión falsa. Este fenómeno ya ha sido descrito en pacientes con esquizofrenia. Estos presentan una reducción del 15% del número de neuronas piramidales en la corteza auditiva primaria (para revisión, Smiley, 2009; Shenton y cols., 2001; Gur y Chin, 1999; Smiley y cols., 2007; Sweet y cols., 2004). Estos resultados se encuentran asociados con el deterioro del lenguaje, almacenamiento de recuerdos visuales y las alucinaciones (Ortuño, 2010).

Respecto a la cuantificación del número de células gliales que conforman la corteza temporal de las ratas con LnHV, se demostró que estas muestran un aumento significativo hasta del 200% en comparación a ratas con lesión falsa. La literatura no reporta este tipo de estudios para pacientes con esquizofrenia y la presente tesis es la primera en demostrar este fenómeno en este modelo animal. La hiperproliferación de células gliales en corteza temporal hablan de un daño neuronal en esta zona, este es un signo histopatológico importante de daño en la corteza temporal. Esta hiperproliferación podría deberse como consecuencia de la lesión realizada por el ácido iboténico en el hipocampo ventral, el cual provoca muerte celular a lo largo de las conexiones con otros circuitos. Recordando que el ácido iboténico actúa como un potente neuroexcitador, su mecanismo de acción es a través

de los receptores postsinápticos NMDA localizados en las dendritas de la neurona, permitiendo al Ca^{+2} acceder al entorno intracelular, cuya entrada excesiva lleva finalmente a la muerte de la neurona por excitotoxicidad a través de procesos apoptóticos.

Además, se encontró una relación significativa entre la disminución de la amplitud del PPA y la disminución de células que conforman la corteza temporal de las ratas con LnHV. Estos resultados sugieren una relación anatomo-funcional de la corteza temporal. En personas con esquizofrenia, se ha observado este fenómeno, reducción en el número de neuronas y en el potencial relacionado al evento P300 (McCarley et al., 1993; 2002, Preuss et al., 2010). Sin embargo, otros estudios contradicen esto, mostrando que no existe una relación entre la reducción del volumen del lóbulo temporal y la disminución del potencial P300 (Havermans et al., 1999; Meisenzahl et al., 2004). Nuestros hallazgos, respaldan lo descrito por Light et al. (2012), Turetsky et al., (2009), McCarley et al., (1993, 2002) Kawasaki et al., (1997) and Preuss et al., (2010), es necesario continuar con este tipo de correlaciones para determinar la relación anatomo-funcional de la corteza temporal de las personas con esquizofrenia.

La organización de las neuronas piramidales de la corteza temporal que conforman el encéfalo de las ratas con LnHV pudo ser analizada a través del estudio de análisis de Sholl. A través de este se evaluó el patrón de ramificación de las dendritas por su número y longitud. Diversos estudios han descrito atrofia neuronal, disminución en la densidad de espinas dendríticas, así como cambios en el volumen de diferentes estructuras límbicas en sujetos con trastorno de esquizofrenia (Powchik y cols., 1998; Lewis y cols., 2003; Barros y cols., 2009; Pappas y cols., 2001; Silva-Gómez y cols., 2003b; Flores y cols., 2005a). Lo anterior fuertemente relacionado con los déficits de conducta, cognitivos y biológicos presentes en la enfermedad. Estas alteraciones morfológicas se han observado en distintos modelos animales de esta enfermedad. Bringas y cols., (2011) demostraron que ratas con LnHV presentan reducciones en la longitud dendrítica, arborización y número de espinas dendríticas de neuronas que conforman la corteza prefrontal, núcleo accumbens y amígdala basolateral. Conjuntamente, demostraron que estas reducciones podrían ser revertidas con la aplicación de fármacos como haloperidol o clozapina (Bringas y cols., 2011). Además,

Vázquez-Roque y cols., (2012) reportan alteraciones en la citoarquitectura neuronal de ratas con LNHV en corteza media prefrontal y núcleo accumbens demostrando que con la aplicación de un péptido con factores neurotróficos pueden revertir la hipotrofia neuronal observada. Hasta el momento no existen reportes en la literatura sobre análisis morfológicos de la corteza temporal para este modelo animal.

En la presente investigación se encontró un fenómeno inverso a lo reportado por Bringas y cols., (2011) y Vázquez-Roque y cols., (2012). Las ratas con LnHV presentan un aumento en la longitud dendrítica y arborización en la corteza temporal. Esto podría ser una respuesta de adaptación de las neuronas para compensar los efectos de la lesión, realizando modificaciones en la organización estructural con la finalidad de minimizar los efectos de la lesión (Galaburda, 1990).

La ramificación o sinaptogénesis reactiva es un fenómeno plástico por el cual una neurona puede aumentar su longitud dendrítica y arborización. Este fenómeno se refiere a el crecimiento de un cuerpo celular hacia otro como consecuencia de detectar un sitio vacío. En otras palabras, este sitio vacío, puede provocar que una neurona lo llene parcialmente por sus ramificaciones. Estas ramificaciones son guiadas por axones de crecimiento y proteínas tales como; la laminina, integrina y cadherinas, con múltiples sitios de acoplamiento para neuronas, factores tróficos y glucoproteínas (Fingers y cols., 1988; Pascual-Leone y cols., 1994). Como ya se demostró en el presente trabajo a través de los estudios de cuantificación celular las ratas con LnHV presentan menor número de neuronas en comparación a las ratas sham. Esto podría activar el fenómeno plástico de ramificación o sinaptogénesis reactiva explicando en parte la causa de que ratas con LnHV presenten aumento en longitud y arborización dendrítica.

Por otra parte, este fenómeno también podría explicarse por la activación factores tróficos y factores de desarrollo neural. El proceso inflamatorio causado por la lesión pudo haber activado a dichos factores con la finalidad de reparar el daño provocado por el ácido iboténico (Ono y cols., 1990; Alvarez-Buylla y cols., 1994, Zohari y cols., 1981).

Las ratas con LnHV presentan reducciones en la longitud dendrítica y arborización de neuronas a lo largo del sistema límbico (Vázquez-Roque y cols., 2012 y Bringas y cols., 2011). Esto podría deberse al fenómeno plástico de supersensibilidad de denervación. Esto quiere decir, que al recibir demasiada estimulación dopaminérgica, las neuronas se hipersensibilizan, lo que provoca una reorganización de la neurona retrayéndose y disminuyendo sus aferencias (Kamiya y cols., 1994; Zang y cols., 1993, Huerta y cols., 1993) no así para la corteza temporal donde no se recibe gran inervación dopaminérgica directa.

Finalmente, los cambios observados en el tercer orden dendrítico están relacionados a la comunicación de la corteza temporal con estructuras distales. Probablemente, el sistema está intentando compensar la comunicación con estructuras tales como; corteza entorrinal, parietal, mesencéfalo, hipocampo, tálamo entre otras.

11. Conclusiones.

- Se encontró que la lesión neonatal de hipocampo ventral redujo la amplitud máxima de los potenciales auditivos provocados en ratas adultas en comparación a las ratas no lesionadas.
- Se observó una disminución en la densidad neuronal y aumento de gliosis en las ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral.
- La lesión neonatal de hipocampo ventral altera la morfología de las neuronas que conforman la capa III de la corteza temporal, aumentando la longitud dendrítica y arborización.

12. Perspectivas.

Con los resultados obtenidos en el presente trabajo, surgen otras interrogantes y temas de interés para comprender las alteraciones funcionales del lóbulo temporal de las ratas con lesión neonatal de hipocampo ventral y sus implicaciones en la esquizofrenia.

Para estudios posteriores, se propone que se evalúe la integridad funcional de la vía auditiva a través de registros simultáneos electrofisiológicos intracorticales. Estos registros pueden abarcar desde el nervio auditivo, tálamo auditivo, colículos superiores y lóbulo temporal. De esta forma, se puede identificar los núcleos específicos que presentan alteraciones en los PPA. Con esta información se podría corroborar la alteración específica de la vía talámico-colículo-cortical que presentan las ratas con LnHV.

Las ratas con LnHV presentan alteraciones electrofisiológicas en colículos superiores (Macedo y Cols., 2012) y lóbulos de la corteza temporal. Surge la interrogante de la existencia de alteraciones a nivel del tálamo auditivo. Cabe recordar que este núcleo es una estructura intermedia de comunicación entre los colículos superiores y el tálamo auditivo. Se podría tipificar la morfología de las neuronas que conforman este sitio, así como realizar una cuantificación de neuronas que conforman el núcleo. Además, llama la atención

realizar el conteo y la tipificación de las espinas dendríticas, con esta información se puede inferir la capacidad de sinapsis y de comunicación del núcleo.

Respecto al hallazgo de que las ratas con LnHV presentan mayor número de células gliales, sería conveniente determinar el tipo de célula glial es la que conforman la corteza temporal. Esto podría realizarse con diferentes técnicas inmunohistoquímicas tales como GFAP, PAGF-Astrocitos, Iba-1-microglia. Identificando el tipo de célula glial se puede concluir la función que tiene su presencia corteza temporal de la rata con LnHV.

Finalmente, una de las limitantes de este trabajo fue el no contar con una muestra de pacientes con esquizofrenia. Sería interesante, replicar la obtención de los PPA con el mismo protocolo que se utilizó en la presente tesis.

El presente trabajo toma una gran importancia, debido a que se arrojan hallazgos novedosos sobre la integridad funcional de la corteza temporal de las ratas con LnHV. Este estudio permitió entender en parte, la participación del lóbulo temporal en la fisiopatología de la esquizofrenia. Es necesario continuar con este tipo de estudios para entender esta patología y así incrementar la calidad de vida de los sujetos que padecen esquizofrenia.

13. Referencias.

- Andreasen NC (2000). Schizophrenia: the fundamental questions. *Brain Research Reviews*. 31: 106-112.
- Andreasen NC y O'Leary DS (1997). Hipofrontality in schizophrenia distributed dysfunction circuits in neuroleptic naive patient. *Lancet*. 329: 1730- 1734.
- Arezzo J, Pickoff A. y Vaughan, HG (1975). The sources and intracerebral distribution of auditory evoked potentials un the alert rhesus monkey. *Brain Res.*, 90: 57-73.
- Alquicer G, Morales-Medina JC, Quirion R, Flores G., (2008). Postweaning social isolation enhances morphological changes in the neonatal ventral hippocampal lesion rat model of psychosis. *J. Chem. Neuroanat.* 35:179–187.
- Bardgett ME, and Henry JD (1999) Locomotor activity and accumbens fos expression driven by ventral hippocampal stimulation require D1 and D2 receptors. *Neuroscience*, 94:59-70.
- Barta PE, Pearlson et. al (1990). Auditory hallucinations and smaller superior temporal gyral volume in schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry*, 147(11), 1457-1462.
- Barth SD (1990) Three-dimensional analysis of auditory-evoked potentials in rat neocortex, *J. Neurophysiol.* 64: 1527–1536.
- Becker A, Grecksch G (2003). Haloperidol and clozapine affect social behaviour in rats postnatally lesioned in the ventral hippocampus. *Pharmacol Biochem Behav* 76:1–8.
- Braff DL y Light GA (2003) Preattentional and attentional cognitive defficits as target for testing schizophrenia. *Psychopharmacology* 174: 75-78.
- Brake WG, Sullivan RM, Flores G, Srivastava LK, Gratton A (1999). Neonatal ventral hippocampal lesions attenuate the nucleus accumbens dopamine response to stress: an electrochemical study in the adult rat. *Brain Res* 831:25–32.
- Brenner C, Krishnan G, Vohs JL, Young W, Hetrick W y cols., () Steady state responses: Eletrophysiological Assessment of Sensory Function in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin Advance Access*. 1-13.
- Butler PD, Martinez A, Foxe JJ, Kim D, Zemon V, et al. (2007). Subcortical visual dysfunction in schizophrenia drives sec- ondary cortical impairments *brain* 130(Pt 2): 417-430.

- Carpenter WT, Koenig JI (2008). The evolution of drug development in schizophrenia: past issues and future opportunities. *Neuropsychopharmacology* 33: 2061–2079.
- Cannon M, Jones RB, Murray RM. (2002). Obstetric complications and schizophrenia: Historical and meta-analytic review *Am. J Psychiatry* 159, 1080-1092.
- Carlson N (2006) *Fisiología de la conducta*. USA: Pearson.
- Cenquizca, LA, Swanson, LW (2007) Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Research Reviews* 56 (1), 1-26.
- Chambers RA, Moore J, Mc Evoy JP, Levin ED. (1996). Cognitive effects of neonatal hippocampal lesions in a rat model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*; 15(6):587-94.
- Choy Wong y Van Tol (2003) Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. *Neuroscience and biobehavioral reviews*: 27: 269-306.
- Coles, M. G. H. & Rugg, M. D. (1995). Event-related brain potentials: an introduction. En M. D. Rugg & M. G. H. Coles (Eds.), *Electrophysiology of mind: Event-related brain potentials and cognition* (pp. 1-26). New York, EE. UU.: Oxford University Press.
- De Bellis M.D., Chrousos, G.P., Dorn, L.D. et al. (1994) Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation in sexually abused girls. *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*: 78: 249-255.
- Duvernoy HM, (1988). *The human hippocampus: An atlas of applied anatomy*. Munich: J.F. Bergmann Verlag, p. 166.
- Emerson RG and Pedley, TA (2004). Encefalografía y potenciales evocados. En W. G. Bradley, R. B. Daroff, G. M. Fenichel, & J. Jankovic (Eds.), *Neurología clínica: diagnóstico y tratamiento* (465-490). Madrid, España: Elsevier.
- Falkai P., Bogerts B., (1986) Cell loss in the hippocampus of schizophrenics, *Eur. Arch. Psychiatry Neurol. Sci.* 154–161.
- Fingers S, Wolft C.(1988) The Kennard principle before Kennard. The early history of age and brain lesions. *Arch Neurol* ; 45: 1136 – 42
- Floresco SB, Tse MT (2007). Dopaminergic regulation of inhibitory and excitatory transmission in the basolateral amygdala-prefrontal cortical pathway. *J Neurosci.* 27(8):2045-57.

- Flores G, Silva-Gomez AB, Ibanez O, Quirion R, Srivastava LK., 2005b. Comparative behavioral changes in postpubertal rats after neonatal excitotoxic lesions of the ventral hippocampus and the prefrontal cortex. *Synapse* 56:147– 153.
- Flores G, Alquicer G, Silva-Gomez AB, Zaldivar G, Stewart J, Quirion R, et al. Alter- ations in dendritic morphology of prefrontal cortical and nucleus accumbens neurons in post-pubertal rats after neonatal excitotoxic lesions of the ventral hippocampus. *Neuroscience* 2005;133:463–70.
- Flores G., Barbeau D., Quirion R., Srivastava L.K., (1996). Decreased binding of dopamine D3 receptors in limbic subregions after neonatal bilateral lesion of rat hippocampus. *J Neuros.* 16:2020-2026.
- Francois J, Ferrandon A, Koning E, Angst MJ, Sandner G, Nehlig A. (2009) Selective reorganization of GABAergic transmission in rats with neonatal ventral hip- pocampus lesion. *Int J Neuropsychopharmacology*;9:1–14.
- Frenk J, Lozano R, Gonzales MA (1999). *Economía y salud: Propuesta para el avance del sistema de salud en México.* Fundación Mexicana para la salud.
- Gallacher, F., et al. (1995). Resting cerebral glucose metabolism in first- episode and previously treated patients with schizophrenia relates to clinical features. *Archives of General Psychiatry*, 52(8), 657-667.
- Galaburda, A. M., Sanides, F., & Geschwind, N. (1978). Human brain. cytoarchitectonic left-right asymmetries in the temporal speech region. *Archives of Neurology*, 35(12), 812-817.
- Galaburda AM. (1990) Introduction to Special Issue: Developmental plasticity and recovery of function. *Neuropsychologia*; 28: 515-6.
- Glaser J., Greene G., Hendricks S. (2007) *Stereology for biological reserch with a focus on Neuroscience.* USA: mbf press
- Goldman MB, Torres IJ Keedy S, Marlow-O'Connor M, Beenken B, Pilla R (2007). Reduced anterior hippocampal formation volume in hyponatremic schizophrenic patients. *Hippocampus*. 17(7):554-62.
- Guidotti, A., Auta, J., Davis, J.M. et al. (2000) Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase 67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: A postmortem brain study. *Arch. Gen. Psychiatry* 57, 1061–1069.
- Gur, R. E., Mozley, P. D., Resnick, S. M., Mozley, L. H., Shtasel, D. L.,

- Haenschel C, Bittner RA, Waltz J, Haertling F, Wibrall M, Singer W, Linden DEJ, Rodriguez E. (2009). Cortical oscillatory activity is critical for working memory as revealed by deficits in early-onset schizophrenia. *J Neurosci* 29:9481-9489.
- Harrison PJ. (1999). The neuropathology of Schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain*, 122, 593-624.
- Harrison PJ (1999). Neurochemical alterations in schizophrenia affecting the putative targets of atypical antipsychotics: focus on dopamine (D1, D3, D4) and 5-HT_{2A} receptors. *Br J Psychiatry* 174 Suppl 38:41-51.
- Harrison PJ, Weinberger DR (2005). Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry*. 10(1):40-68.
- Halim, N.D., and Swerdlow, N.R. (2000) Distributed neurodegenerative changes 2-28 days after ventral hippocampal excitotoxic lesions in rats. *Brain Research*, 873:60-74,
- Heimer, L. (2003). A new anatomical framework for neuropsychiatric disorders and drug abuse. *Am. J. Psychiatry* 160, 1726–1739.
- Hendelman WJ (2006) Atlas of functional neuroanatomy. USA: Taylor y Francis Comp. 2nd Ed.
- Hirsch SR, Das I, Carey LJ, Belleruche J. (1997). *Pharmacology Biochem. Behav.* 56. 797-802.
- Huerta PT, Lisman JE. (1993) Heightened synaptic plasticity of hippocampal CA1 neurons during a cholinergically induced rhythmic state. *Nature*; 364. 723- 725.
- Jansen BH, Hu L, Boustrom N (2010). Auditory Evoked Potentials Variability in Healthy and Schizophrenia Subjects. *Clin Neurophysiol.* 121(8): 1233–1239.
- Jones CA, Watson DJ, Fone KC (2011). Animal models of schizophrenia . *BR J. Pharmac.* 164(4): 1162-94.
- Kamiya H, Zucker RS. (1994) Residual Ca²⁺ and short – term synaptic plasticity. *Nature*; 371: 603 - 606.
- Kandel E et al. (2000) *Principle of Neuroscience*. USA: McGraw-Hil Companies.
- Klevest G. Et al. (2010) Relationship between sensory “gating out” and sensory “gating in” of auditory evoked potentials in schizophrenia: a pilot study. *Schizophrenia Res*; 121 (1-3): 139-145

- Koukkou, M., Lehmann, D., Wackermann, J., Dvorak, I. & Henggeler, B. (1993). Dimensional complexity of EEG brain mechanisms in untreated schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 33, 397-407.
- Le Pen G, Gaudet L, Mortas P, Mory R, Moreau JL. (2002). Deficits in reward sensitivity in a neurodevelopmental rat model of schizophrenia. *Psychopharmacology* 161:434–441.
- Lencz T, Bilder RM, Comblatt B. (2001). The timing of neurodevelopment abnormality in schizophrenia: an integrative review of the neuroimaging literature. *CNS Spectrum*, 6, 233-255.
- Levitan, C., Ward, P. B., & Catts, S. V. (1999). Superior temporal gyral volumes and laterality correlates of auditory hallucinations in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 46(7), 955-962.
- Le Pen G, Moreau JL. (2002). Disruption of prepulse inhibition of startle reflex in a neurodevelopmental model of schizophrenia: reversal by clozapine, olanzapine and risperidone but not by haloperidol. *Neuropsychopharmacology* 27:1–11.
- Lewis DA, Lieberman JA. (2000). Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. *Neuron* 28, 235-334.
- Lipska BK, Weinberger DR (1995). Genetic variation in vulnerability to the behavioral effects of neonatal hippocampal damage in rats. *Proc Natl Acad Sci USA*. 92, 8906-8910.
- Lipska BK, Weinberger DR. (2002). A neurodevelopmental model of schizophrenia: neonatal disconnection of the hippocampus. *Neurotox Res* 4:469–475
- Lois C. Alvarez - Buylla A. (1994) Long - distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science*;264:1145 - 1148.
- Macedo CE, Angst MJ, Guiberteau T, Brasse D, O'Brien TJ, Sandner G. (2010) Acoustic hypersensitivity in adult rats after neonatal ventral Behavioural Brain Research 207; 161–168.
- Martínez, C. & Rojas, B. (1998). *Manual de técnicas de electroencefalografía* (3a. ed.). México, D.F., México: Comunicaciones Científicas Mexicanas S.A. de C.V.
- Manaye KF, Liang CL, Hicks PB, German D, Young KA. (1998) Nerve cell numbers in thalamic anterior and mediodorsal nuclei are selectively reduced in schizophrenia, *Soc. Neuroscience* 24.

- McCarley, R. W., Wible, C. G., Frumin, M., Hirayasu, Y., Levitt, J. J., Fischer, I. A., et al. (1999). MRI anatomy of schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 45(9), 1099-1119.
- Meryn EL, Floyd TC (1992). Negative symptoms and EEG alpha activity in schizophrenic patients. *Schizophr Res* 8:11-20.
- Meeren, H.K.M., Van Cappellen van Walsum, A.M., Van Luijtelaar E.L., Coenen, A.M., (2001) Auditory evoked potentials from auditory cortex, medial geniculate nucleus, and inferior colliculus during sleep-wake states and spike-wave discharges in the WAG/Rij rat. *Brain Research*. 898:321-331.
- Miyamoto S, LaMantia AS, Duncan GE, Sullivan P, Gilmore JH, Lieberman JA (2003). Recent advances in the neurobiology of schizophrenia. *Mol Interv*. 3(1):27-39
- Ojeda JL, Icardo JM. (2004). *Neuroanatomía Humana aspectos funcionales y clínicos*. España: Masson.
- Ortuño F (2010) *Lecciones de Psiquiatría*. España: Editorial Medica Panamericana
- Ono K, Shimada M, Yamano T. (1990) Reorganization of the corticoespal tract following neonatal unilateral cortical ablation in rats. *Brain Dev*; 12: 226 - 236.
- Pascual - Leone A, Grafman J. Hallet M. (1994) Modulation of cortical motor output maps during development of implicit and explicit knowledge. *Science*; 263: 1287 - 1289.
- Petty, R. G., Barta, P. E., Pearlson, G. D., McGilchrist, I. K., Lewis, R. W., Tien, A. Y., et al. (1995). Reversal of asymmetry of the planum temporale in schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry*, 152(5), 715-721.
- Rains, D. G. (2004). *Principios de Neuropsicología Humana*. México, D. F., México: McGraw Hill.
- Pocock, G. y Richards, C. D. (2005). *Fisiología humana: la base de la medicina* (2ªEd.). Barcelona, España: Masson.
- Rosburg T, Marinou V, Haueisen J, Smesny S, Sauer H (2004). Effects of lorazepam on the neuromagnetic mismatch negativity (MMNm) and auditory evoked field component N100m. *Neuropsychopharmacology* 29, 1723–1733.
- Rosso IM, Cannon TD, Huttunen T, Huttunen MO, Lonnqvist J, Gasperoni TL. (2000). Obstetric risk factors for early-onset schizophrenia in a Finnish birth cohort. *Am. J. Psychiatry* 157,801-407.

- Rowan, J. A. and Tolunsky, E. (2004). *Conceptos Básicos sobre EGG con mini-atlas*. Madrid, España: Elsevier.
- Skrabo, A. (1999). Negative Symptoms in Schizophrenia(s): The Conceptual Basis. *The Harvard Brain*: 6, 7-10.
- Shawn NA (1987) The auditory evoked potential in the rat-A review. *Progress in Neurobiology*: 31, 19-45.
- Serra-Gonzales (2012). *Complejidad cerebral y patología psiquiátrica: un análisis normativo*. Tesis de doctorado. Universidad Complutense de Madrid
- Roberts GW. Royston MC. Weinberger DR. (1997). Schizophrenia In: Graham DL, Lantos PL, editors. *Greenfield's neuropathology*. 6th ed. London: Edward Arnold; p. 897-929.
- Rowan, J. A. & Tolunsky, E. (2004). *Conceptos Básicos sobre EGG con mini- atlas*. Madrid, España: Elsevier.
- Schwarcz R, Hökfelt T, Fuxe K, Jonsson G, Goldstein M, Terenius L. (1979). Ibotenic acid-induced neuronal degeneration: A morphological and neurochemical study. *Exp. Brain Res.* 37, 199–216.
- Serra-Gonzales (2012) *Complejidad Cerebral y patologia psiquiatrica: un analisis normativo*. Tesis de Doctorado. Universidad Complutense de Madrid.
- Shapleske, J., Rossell, S. L., Woodruff, P. W., & David, A. S. (1999). The planum temporale: A systematic, quantitative review of its structural, functional and clinical significance. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 29(1), 26-49.
- Shenton, M. E., Dickey, C. C., Frumin, M., & McCarley, R. W. (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 49(1-2), 1-52.
- Shenton, M. E., Kikinis, R., Jolesz, F. A., Pollak, S. D., LeMay, M., Wible, C. G., et al. (1992). Abnormalities of the left temporal lobe and thought disorder in schizophrenia. A quantitative magnetic resonance imaging study. *The New England Journal of Medicine*, 327(9), 604-612.
- Smiley JF, Dwork AJ, Mancevski B, Rosoklija G, Duma A, et al. (2007) Auditory cortex width, hemispheric asymmetry and schizophrenia. *Schizophrenia Bull* 33(2): 272.
- Smiley JF (2009) *Auditory Cortex Anatomy and asymmetry in Schizophrenia*. Springer Science: 354:372

- Sweet RA, Bergen SE, Sun Z, Sampson AR, Pierri JN, et al. (2004) Pyramidal cell size reduction in schizophrenia: Evidence for involvement of auditory feedforward circuits. *Biol Psychiatry* 55(12): 1128-1137.
- Swerdlow NR, Halim N, Hanlon FM, Platten A, Auerbach PP. (2001) Lesion size and amphetamine hyperlocomotion after neonatal ventral hippocampal lesions: more is less. *Brain Res Bull*; 55: 71-77.
- Tarullo, A.R., Grunnar, M.R. (2006) Child maltreatment and the developing HPA axis. *Horm Behav*; 50: 632-639.
- Thune JJ y Pakkenberg B (2000) Stereological studies of the schizophrenic brain. *Brain Research Reviews* 31. 200-204.
- Tracy J. y Monaco C., 2001. Anticholinergic and cognitive processing in chronic schizophrenia. *Biological Psychology*. 56: 1-22.
- Tseng, KY, Andrew CR, Lipska, BK (2009). The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. *Behavioural Brain Research* 204: 295-305.
- Valdes-Cruz A, Negrete JV, Magdaleno VM y cols., (2012) Electroencephalographic activity in Neonatal ventral hippocampus Lesion in Adult rats. *Synapse* 66:738-746.
- Van Erp TG, Saleh RA, Rosso IM. (2002). Contributions of genetic risk and fetal hypoxia to hippocampal volume in patients with schizophrenia or schizoaffective disorder, their unaffected siblings, and healthy unrelated volunteers. *Am. J. Psychiatry* 159, 1514-1520.
- Van Winkel, R., Stefanis N.C., Myin-Germeys I. (2008) Psychosocial Stress and Psychosis. A review of the neurobiological mechanisms and the evidence for gene-stress interaction. *Schizophrenia Bulletin*: 34 (6): 1095-1105.
- Vazquez-Roque R y cols., (2011) Chronic Administration of Neurotrophic Agent Cerebrolysin ameliorates the behavioral and morphological change induced by neonatal ventral hippocampus lesion in rat model of schizophrenia. *Journal of Neuroscience Research*: 90:288-306.
- Vohs y cols., (2009) Auditory Sensory Gating in the Neonatal Ventral Hippocampal Lesion Model of Schizophrenia. *Neuropsychobiology*: 255-267
- Vita, A., Dieci, M., Giobbio, G. M., Caputo, A., Ghiringhelli, L., Comazzi, M., et al. (1995). Language and thought disorder in schizophrenia: Brain morphological correlates. *Schizophrenia Research*, 15(3), 243-251.

- Walker, E.F. and Diforio, D. (1997) schizophrenia: a neural diathesis-stress model. *Psychol Rev*: 104:667–685
- Weinberger DR. (1995). Neurodevelopment perspectives on schizophrenia. In *Psychopharmacology: The fourth generation of progress*, (F.E. Bloom and D. J. Kupfer, Eds.), pp. 1171-1183. Raven Press, New York.
- Wong AH, Van Tol HH. (2003). Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. *Neuroscience and Biobehavioral Rev*. 27: 269-306.
- Zang SJ, Jackson MB. (1993) GABA - activated chloride channels in secretory nerve endings. *Science*; 259: 431 - 434.
- Zohari E. Celebrini S. Britten KH, Newsome WT. (1981) Neuronal plasticity that underlies improvement in perceptual performance. *Arch Neurol*;38:191-4