



# Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del aislamiento social temprano  
sobre la generación y transmisión del  
potencial de acción compuesto en el nervio  
sensorial sural de la rata hembra adulta:  
Papel de los estímulos táctiles

**T E S I S**

PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

**Ramirez Funez Gabriela**

**Co-Directores de tesis:**

Dr. René Zempoalteca Ramírez

Dr. Angel Ismael Melo Salazar





# Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del aislamiento social temprano  
sobre la generación y transmisión del  
potencial de acción compuesto en el nervio  
sensorial sural de la rata hembra adulta:  
Papel de los estímulos táctiles

**T E S I S**

PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

**Ramirez Funez Gabriela**

**Comité tutorial:**

Dr. Ismael Jiménez Estrada

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Dr. René Zempoalteca Ramírez

Dr. Angel Ismael Melo Salazar

## **FINANCIAMIENTO**

El presente proyecto de tesis fue realizado en las instalaciones del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta (CTBC) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México), ubicado en Tlaxcala, Tlaxcala y en el Centro de Investigación en Reproducción Animal (CIRA) CINVESTAV-Universidad Autónoma de Tlaxcala, ubicado en Ixtacuixtla Tlaxcala. Bajo la codirección del Dr. Angel Ismael Melo Salazar y del Dr. René Zempoalteca Ramirez y la tutoría del Dr. Ismael Jiménez Estrada, Dra. Bertha Segura Alegria, Dra. Rosa Angelica Lucio Lucio y Dra, Dora Luz Quintanilla Corona.

Para la realización del presente trabajo se contó con el apoyo parcial del proyecto CONACYT G3 # 181334, y la beca otorgada por CONACYT con número 753877.

La Maestría en Ciencias Biológicas está registrada en el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional. Padrón Nacional de Posgrado (PNP).



Universidad Autónoma de Tlaxcala  
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado  
Posgrado en Ciencias Biológicas



COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA  
P R E S E N T E

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Gabriela Ramirez Funez** realiza para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es: **“Efecto del aislamiento social temprano sobre la generación y transmisión del potencial de acción compuesto en el nervio sensorial sural de la rata hembra adulta: papel de los estímulos táctiles”**

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
TLAXCALA, TLAX., JULIO 27 DE 2018

DR. ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA

DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO

DR. RENÉ ZEMPOALTECA RAMÍREZ

DRA. BERTHA SEGURA ALEGRÍA

DRA. DORA LUZ CORONA QUINTANILLA



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:  
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015



## **AGRADECIMIENTOS**

Al posgrado del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, unidad periférica del Instituto de Investigaciones biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A CONACYT por haber otorgado la beca con numero 753877 a GRF.

A mis codirectores de tesis, Doctor Angel Ismael Melo Salazar y Doctor Rene Zempoalteca por todo el apoyo brindado, por sus enseñanzas y por darme la oportunidad de realizar este trabajo bajo su dirección.

A mi comité tutorial, Doctor Ismael Jiménez Estrada, Doctora Bertha Segura Alegría, Doctora Rosa Angélica Lucio Lucio y Doctora Dora Luz Quintanilla. Gracias por sus comentarios y sugerencias para la realización del presente trabajo.

A mis compañeros y amigos de laboratorio de electrofisiología, M en C. Suelem Pérez Moreno, Dra. Rhode López Juárez, M en C. Cecilia Hernández Bonilla.

A mis compañeros y amigos del laboratorio de neuroendocrinología, Dra. Claudia Patricia Sánchez Olgin, por su amistad, compañía, enseñanzas y por su apoyo durante la crianza artificial. También agradezco al Dr. Marcos y M en C. Carlos Edmundo por apoyarme en el registro del ciclo estral de la rata.

## **DEDICATORIA**

A mi papá Mario Ramirez De Jesús por creer en mí y por sus enseñanzas.

A mi mamá Carmen Funez Blas por apoyarme en mis decisiones y alentarme a continuar con mis sueños.

A mis hermanos Corazón, Belén, Mario y Claudia por su compañía y amistad.

A mis sobrinos Mario, Angel, Sofia y Lucero por sus sonrisas y gritos.

**¡¡Gracias por todo familia!!**

## RESUMEN

El cuidado materno constituye un factor primordial para el neurodesarrollo de la progenie. La ausencia del cuidado materno por la privación materna y crianza artificial (CA) durante el periodo postnatal pre-destete afecta negativamente diversos procesos fisiológicos, conductuales y del sistema nervioso central en la rata, no obstante, existen pocos estudios encaminados a evaluar la participación de dicha experiencia en el desarrollo del sistema nervioso periférico (SNP). Recientemente encontramos alteraciones en el potencial de acción compuesto (PAC) del nervio sensorial sural (SU) de la rata macho adulta CA. Sin embargo, a pesar de que se ha mostrado que el aislamiento social temprano también afecta a nivel conductual y morfológico a las hembras, se desconoce qué ocurre en el nervio SU de la hembra. Por lo cual el objetivo del presente proyecto es evaluar el efecto de la privación materna a través de la CA y la adición de estímulos táctiles durante dicho aislamiento sobre el PAC del nervio SU de ratas hembra adulta en diestro. Para responder lo anterior, crías hembras de 4 días postnatales (DPN) fueron; 1) Criadas por su madre, 2) Criadas en el sistema de CA, sin madre ni hermanos (CA-Aislado) o, 3) Criadas artificialmente más cinco estimulaciones corporales con un pincel de cerdas finas durante 90 segundos por sesión (simulando los lamidos de la madre; CA-Táctil). En el DPN 21 las hembras de los diferentes grupos fueron destetadas y alojadas en el bioterio dentro de cajas de acrílico en condiciones estándar. A los 3-4 meses de edad las hembras en diestro (identificadas por frotis vaginal) se anestesiaron con uretano (1.6 g/kg) y se disecó el nervio SU, se extrajo e *in vitro* se realizó el registro del PAC mediante electrodos de succión. Se aplicaron estímulos eléctricos de duración de 0.05 ms e intensidad variable ( $\mu\text{A}$ ) y de frecuencia fija (Hz). Los resultados de umbral eléctrico de activación, el cual se refiere a la cantidad mínima de corriente necesaria para evocar la mínima respuesta del PAC, no mostraron diferencias entre grupos. Por otro lado, encontramos que la amplitud del PAC de los nervios SU de las ratas CA fue significativamente menor que la amplitud del PAC de nervios SU de ratas CM y dicha diferencia fue más marcada en 3xU (amplitud CA=1801.000  $\pm$  181.453, amplitud CM=2630.000  $\pm$  100.366,  $p=0.001$ ). La adición de estímulos táctiles previno los efectos ocasionados por la CA sobre la amplitud del PAC. Por otra parte, el área del PAC de nervios de ratas CA mostró una disminución significativa únicamente en 2xU (1021.088  $\pm$  267.511) en comparación con lo registrado en nervios de ratas CM (2084.480  $\pm$  211.922 y  $p=0.025$ ). La estimulación táctil grupo CA-Táctil previno dichos efectos, y aunque no

mostraron diferencias significativas en el área del PAC de nervios de ratas CA-Táctil y CA, el área es ligeramente menor en este último a partir de 2xU hasta 7xU. Por otra parte, la latencia de inicio, latencia pico, latencia final, la velocidad de conducción máxima, la velocidad de conducción promedio, la anchura media y la anchura a la base del PAC registrada en los nervios SU fue similar entre las condiciones.

Estos resultados sugieren que el aislamiento social temprano afecta algunas características del PAC, provocando alteraciones en la conducción del impulso nervioso del nervio SU. Asimismo, nuestros resultados muestran el importante papel de la estimulación táctil proveniente de la madre y hermanos de camada o durante la crianza artificial sobre el desarrollo funcional adecuado del nervio SU.

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Receptores sensoriales.....	3
1.1.1	Receptores cutáneos.....	3
1.2	Nervios periféricos y organización anatómica.....	5
1.3	Características de los nervios periféricos.....	6
1.4	Propiedades electrofisiológicas de los axones periféricos.....	7
1.5	Potencial de acción compuesto.....	8
1.6	Descripción anatómica del nervio sural.....	9
2.	ANTECEDENTES.....	11
2.1	Experiencia temprana y su efecto el sistema nervioso periférico.....	11
3.	JUSTIFICACIÓN.....	16
4.	HIPÓTESIS.....	17
5.	OBJETIVOS.....	18
5.1	Objetivo general.....	18
5.2	Objetivos particulares.....	18
6.	METODOLOGÍA.....	19
6.1	Grupos experimentales.....	19
6.2	Implante de catéter y crianza artificial.....	19
6.3	Preparación de fórmula láctea.....	20
6.4	Registro del ciclo estral de las ratas.....	20
6.5	Registro del potencial de acción compuesto del nervio sural.....	20
6.6	Análisis estadístico.....	23
7.	RESULTADOS.....	24
7.1	Peso corporal.....	24
7.2	Propiedades electrofisiológicas del potencial de acción compuesto del nervio sural de ratas hembra adultas criadas por su madre, criadas artificialmente y criadas artificialmente más estimulación táctil.....	25
7.2.1	Umbral eléctrico de activación.....	25
7.2.2	Amplitud y área del potencial de acción compuesto.....	26
7.2.3	Latencia inicio, latencia pico y latencia final del potencial de acción compuesto.....	30
7.2.4	Velocidad de conducción máxima y velocidad de conducción promedio del potencial de acción compuesto.....	34
7.2.5	Anchura media y anchura en la base del potencial de acción compuesto.....	36
8.	DISCUSIÓN.....	39

9. CONCLUSIÓN.....	46
10. PERSPECTIVAS.....	47
11. REFERENCIAS.....	48

## 1. INTRODUCCIÓN

La experiencia sensorial y social proveniente del cuidado materno es crucial para continuar el desarrollo y maduración de diversos sistemas fisiológicos, neuroendocrinos, cognitivos y conductuales de la progenie especialmente para las especies altriciales. Existen varios modelos animales de laboratorio que permiten estudiar el papel de dichas experiencias durante el periodo postnatal predestete. Los modelos animales de separación materna (SM) tienen la finalidad de explicar de qué manera influye la conducta materna sobre el desarrollo de las crías (Melo, 2015; Lomanowska y Melo, 2016; Fleming y cols., 2002; Gonzalez y Fleming, 2002). La SM puede ser parcial (SMP) o total (SMT). La primera consiste en separar a las crías del nido durante 3, 6, 12 ó 24 horas diarias, durante los primeros 10-14 días de vida; la segunda, en separar a las crías del nido y criarlas dentro de un sistema de crianza artificial (CA) durante los días 4-21 postnatales (Lomanowska y Melo, 2016). Ambos paradigmas experimentales tienen efectos negativos a largo plazo, sobre diversos procesos conductuales (agresión, ansiedad, respuesta al estrés) y neuroanatómicos (morfología dendrítica) (Boccia y Pedersen, 2001; Rhees y cols., 2001; Monroy y cols., 2010). Sin embargo, los resultados conductuales y neuroanatómicos de los modelos de SMP son controversiales debido a que actualmente se considera que son un modelo de estrés crónico temprano más que un modelo de privación materna. En contraste, la SMT permite evaluar el efecto de la privación materna sin alterar las condiciones ambientales (por ejemplo, temperatura), el crecimiento corporal así mismo permite estudiar la participación de cada uno de estímulos provenientes de la madre, sin causar estrés (Lomanowska y Melo, 2016; Melo, 2015). Se ha encontrado que, en contraste con las ratas criadas por su madre (CM), las ratas criadas artificialmente (CA) presentan deficiencias en la conducta materna (Gonzalez y cols., 2001), en la conducta copulatoria (Lenz y cols., 2008; Aguilar, 2015), en el aprendizaje social y en la atención (Melo y cols. 2006; 2009). Además de un incremento en la agresividad territorial y materna (Melo y cols., 2009) en la impulsividad, y en la actividad locomotora (Lovic y Fleming, 2004). Asimismo, se han realizado estudios para determinar si la SMT y la CA afectan los sustratos nerviosos que regulan las conductas afectadas. Se ha encontrado menor densidad de dendritas distales en área preóptica media (APOM) y en el estriado de hembras lactantes CA (Shams y cols., 2012) y disminución en el número de células inmunoreactivas a c-fos (proteína que se utiliza como marcador neuronal, es expresada

cuando se activan las neuronas) en el APOM, la corteza parietal y piriforme en hembras juveniles CA, lo que indica que hay disminución en la activación neuronal (Gonzalez y Fleming, 2002). Además, el APOM de machos adultos presentan disminución de c-fos en el APOM (Akbari y cols., 2008). Estos resultados sugieren que el cuidado materno y el contacto con los hermanos de camada es crítico para el desarrollo del sistema nervioso de las crías. En la interacción madre-crías están implícitos los estímulos táctiles, a través de los lamidos y los estímulos sociales. El papel de dichos estímulos en las crías es importante debido a que el sistema nervioso en desarrollo es altamente responsivo a estímulos táctiles, sociales e incluso a los estímulos táctiles nocivos, que provienen del entorno materno. Por ejemplo, en humanos se ha encontrado que la interacción táctil; “piel con piel” (técnica del canguro) y social con la madre durante las primeras horas postparto influye positivamente en la interacción madre-infante, duración del amamantamiento y en la regulación del llanto del bebé (Bystrova y cols., 2009; Anderson y cols., 2003), y reduce la mortalidad de infantes prematuros (Conde y cols., 2000). En modelos animales donde las crías reciben mayor estimulación táctil por parte de la madre (modelo de “manipulación materna” o modelo de madres “altas lamedoras” Meaney y Aitken, 1985; Champagne y cols., 2003), el desempeño conductual, fisiológico, y neurobiológico es mejor que el de aquellas que reciben menor estimulación táctil. Respecto al modelo de CA, se ha encontrado que la estimulación táctil con un pincel de cerdas finas de 5-8 estimulaciones al día simulando los lamidos de la madre (CA-Táctil), o colocando a 2 crías de madres donadoras dentro del recipiente de aislamiento (CA-Social), previenen los efectos de la CA (Melo y cols., 2006, 2009; Lévy y cols., 2003; Fleming y cols., 2002; Gonzalez y Fleming, 2002; Melo, 2015 y Lomanowska y Melo, 2016). Estos resultados sugieren que los estímulos táctiles y sociales provenientes del cuidado materno pueden alterar, a largo plazo, el funcionamiento del sistema nervioso central. De manera que los estímulos que recibe el cuerpo son percibidos por receptores sensoriales localizados en la piel y transformados en actividad nerviosa, la cual viaja por los de nervios periféricos hacia la médula espinal y posteriormente al cerebro donde se interpreta dicha información para iniciar las respuestas motoras. A continuación, se da una descripción de los receptores sensoriales.

## 1.1 Receptores sensoriales

Los receptores sensoriales son terminales de fibras aferentes primarias, con sus cuerpos celulares en el ganglio espinal o en ganglio trigeminal. Los receptores sensoriales están localizados en la piel, musculo y vísceras. Detectan estímulos mecánicos, térmicos o estímulos nocivos. Siendo los receptores sensoriales cutáneos aquellos que establecen contacto directo con el ambiente externo y la primer vía sensitiva, que transforma la energía del estímulo en señal eléctrica, es importante señalar que la densidad y tipos de receptores sensoriales localizados en la piel varían de forma muy considerable de acuerdo con la presencia de pelo (piel velluda) o ausencia de pelo (piel glabra). La sensibilidad táctil es máxima en la piel glabra. En cambio, la mayor parte de la piel presenta pelo, que varia mucho en longitud, grosor y abundancia de una región del cuerpo a otra. Aunado a esto el campo receptivo de cada receptor sensorial (región de la piel dentro de la cual un estímulo táctil evoca una respuesta sensitiva en la célula) difiere en tamaño y su posición topográfica. A continuación, se describe los receptores cutáneos (Kiernan, 2000).

### 1.1.1 Receptores cutáneos

Son receptores localizados en la piel especializados en recibir información táctil. Dichos receptores pueden ser clasificados de acuerdo con su morfología en dos tipos de terminaciones sensitivas. Las **terminaciones no capsuladas**, son ramas finales del axón, aunque se llaman terminaciones libres, estos axones están siempre cubiertos por células de Schwann y no están en contacto directo con el espacio extracelular, se caracterizan por ser receptores de adaptación lenta o tónicos (siguen disparando mientras dura el estímulo). Este tipo de receptores son ramas terminales de fibras del grupo A $\delta$  y fibras C, interviene en sensibilidades dolorosas o térmicas. Las **terminaciones capsuladas**, las porciones finales de los axones son encerradas en forma completa por células no neuronales que facilitan su adaptación rápida o fásica (receptores que responden al máximo, si la intensidad del estímulo aumenta o disminuye). La estructura nerviosa que forma la capsula sufre una deformación ante un estímulo para excitar el nervio sensitivo (Kiernan, 2000).

Los receptores cutáneos incluyen cuatro tipos principales de mecanorreceptores: corpúsculos de Meissner, corpúsculos de Pacini, discos de Merkel y terminación de

Ruffini. Dichos mecanorreceptores son de umbral bajo, inervados por axones mielínicos tipo A $\beta$  (Kandel y cols., 1997).

**Corpúsculos de Meissner**, están ubicados entre las papilas dérmicas por debajo de la epidermis de los dedos de las manos, palmas y plantas, es decir, en la piel glabra. Son mecanorreceptores de adaptación rápida y traducen estímulos de frecuencias relativamente bajas (30-50Hz). Son alargados y las terminales nerviosas son capsuladas por tejido conectivo. Debido a esta capsula, se especializan en detectar el movimiento. Captan el frote suave y caricias. El tamaño aproximado de estos receptores es de 80 $\mu$ m por 30 $\mu$ m.

**Corpúsculos de Pacini**, están localizados en el tejido subcutáneo, se presenta tanto en la piel velluda como en la piel glabra. Son receptores capsulados, la capsula tiene varias capas de células no nerviosas aplanadas que se disponen en forma de cebolla. Son mecanorreceptores de adaptación muy rápida, responden a estímulos de presión profunda y vibración de altas frecuencias (250-350Hz). Presentan un diámetro de 0.07 mm.

**Discos de Merkel**, son localizados en la epidermis de piel velluda y la piel glabra, (con una organización diferente dependiendo de la presencia o ausencia de pelo). Las ramas del axón terminan como expansiones aplanadas que contiene mitocondrias y pequeñas vesículas electromagnéticas. Dichas terminales son asociadas con células especializadas, las células de Merkel. En la piel velluda los discos de Merkel se conocen como domo táctil o *Haarsheibe*, en humanos están separados por 1 cm aproximadamente, en cambio en animales peludos son abundantes. Son mecanorreceptores de adaptación lenta, responden a estímulos de presión de frecuencias extremadamente bajas (5-15 Hz) y campo receptivo pequeño, de modo que proporcionan la localización más precisa del tacto.

**Terminación de Ruffini**, son encontrados en la dermis de la piel velluda y en la piel glabra, las ramas terminales no mielinizadas son rodeadas por capsula. Son mecanorreceptores de adaptación lenta que responden a estímulos de tensión, es decir, son en particular sensibles al estiramiento o distensión de la piel producido por el movimiento de dedos. Dichos receptores presentan 1 mm de largo y 20 mm de ancho.

De modo que los receptores cutáneos son quienes establecen contacto directo con el ambiente externo, traducen los estímulos que perciben en energía eléctrica y esta viaja a través de nervios periféricos hacia el sistema nervioso central y posteriormente se ejecutan respuestas motoras. A continuación, describo los nervios periféricos.

## 1.2 Nervios periféricos y organización anatómica

Los nervios periféricos están constituidos por axones de neuronas sensoriales y/o motoras cuya función es transmitir información mediante potenciales de acción. Los nervios periféricos presentan tres cubiertas de tejido conectivo a lo largo de toda su extensión; el tejido conectivo más interno es el endoneuro, está formado por dos láminas de fibras de colágeno, ésta rodea individualmente a los axones y forma paquetes de fibras. Dichos paquetes son agrupados en fascículos por el perineuro, el cual está formado por láminas celulares concéntricas, continuas y fibras de colágeno entre cada lámina, esto mantienen el equilibrio iónico. El epineuro es el tejido que agrupa todos los fascículos, está formado por fibras de colágeno, fibras elásticas, tejido adiposo, mastocitos y vasos sanguíneos (ver figura 1; Brushart, 2011).

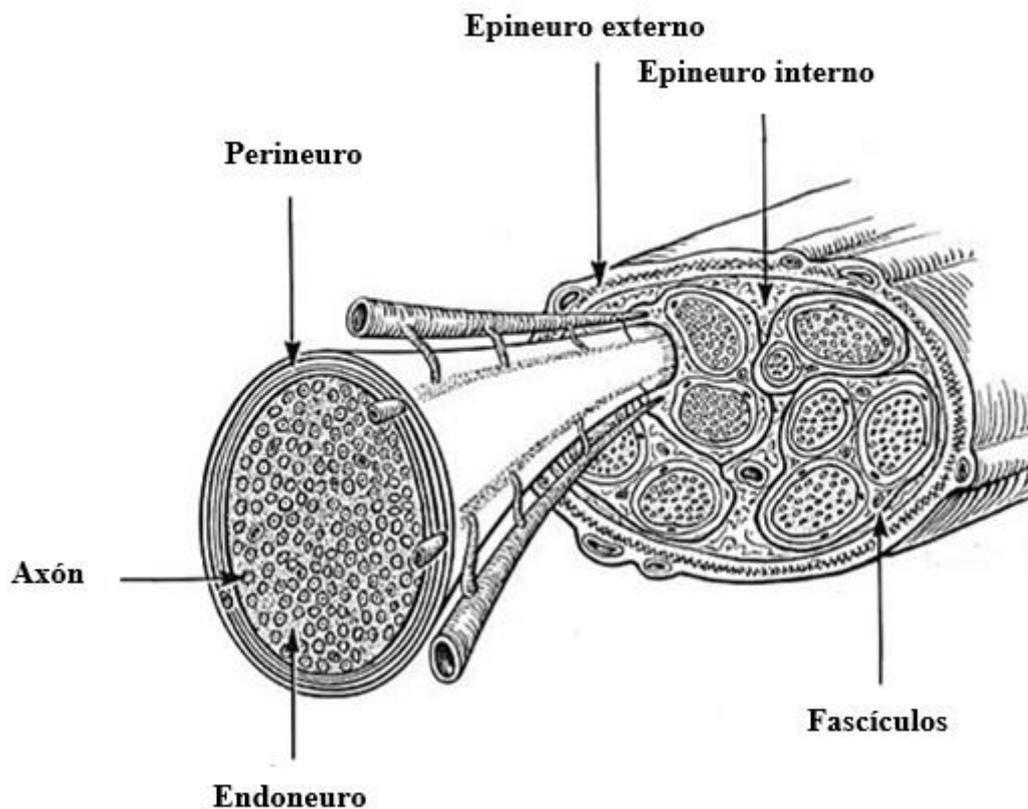


Figura 1. Organización anatómica de los nervios periféricos (modificado de Brushart, 2011).

### 1.3 Características de los nervios periféricos

Los axones que componen a un nervio presentan características morfológicas y funcionales muy variadas, por ello para su clasificación se consideraran criterios tales como la estructura periférica que inervan, su histología y propiedades funcionales.

Considerando la estructura periférica que inervan los axones que componen a un nervio se han clasificado como: 1) nervios cutáneos o sensoriales y 2) nervios musculares o motores: los primeros son aquellos cuyos axones (fibras aferentes) provienen de receptores situados en la piel o vísceras, mientras que los segundos son aquellos cuyos axones provienen de receptores situados en músculo, como husos musculares (fibras aferentes Ia y II) y órganos tendinosos de Golgi (fibras aferentes Ib) o de receptores de presión profunda. Dichos nervios también contienen axones eferentes que provienen de neuronas motoras  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  de la médula espinal.

De acuerdo con las características histológicas de los axones se clasifican como: fibras mielínicas y fibras amielínicas, dependiendo de la presencia o ausencia de vainas de mielina en el axón, respectivamente. Incluso el diámetro de las fibras mielínicas y amielínicas es variado y se usa también como criterio para clasificar las fibras nerviosas. Existe una nomenclatura numérica para clasificar a las fibras motoras (propuesta por Lloyd y Chang, 1948) y alfabética para fibras cutáneas (propuesta por Elinger y Gaseer, 1937; Bovie y Perl 1975) como a continuación se describen.

**Fibras A  $\alpha$** , son fibras mielínicas, su diámetro varía entre 13 a 20  $\mu\text{m}$ , provienen de husos musculares y órganos tendinosos de Golgi. Estas fibras se encuentran en nervios motores exclusivamente y la velocidad a la que conducen es de 72 a 120 m/seg.

**Fibras A  $\beta$** , son fibras mielínicas, su diámetro varía entre 6 a 12  $\mu\text{m}$ , provienen de receptores de tacto fino situados en la piel, de receptores pilosos y de husos musculares secundarios. Son fibras del grupo II de acuerdo con la clasificación de fibras motoras, la velocidad a la que conducen es de 24 a 71 m/seg.

**Fibras A  $\delta$** , son fibras mielínicas, su diámetro varía entre 1 a 5  $\mu\text{m}$ , provienen de receptores de tacto fino, presión profunda, temperatura y conducen dolor punzante. Son fibras del grupo III en los nervios motores, su velocidad de conducción es de 6 a 23 m/seg.

**Fibras C**, son fibras amielínicas, su diámetro es menor a 1  $\mu\text{m}$ , provienen de receptores de tacto grueso, temperatura y conducen sensaciones de picazón y dolor. Estas fibras presentan un umbral alto de activación desde 10 a 20 veces la requerida para activar las fibras más excitables. Son fibras del grupo IV en la clasificación de los nervios motores y conducen a una velocidad de 0.5 a 5 m/seg.

Desde el punto de vista funcional, los axones poseen diversas propiedades para generar y transmitir potenciales de acción. Dichas propiedades se describen a continuación.

#### **1.4 Propiedades electrofisiológicas de los axones periféricos**

**Umbral eléctrico de activación:** El umbral eléctrico de activación se refiere a la cantidad de corriente necesaria para generar la mínima respuesta del potencial de acción compuesto (PAC), la cual varía en función inversa con el diámetro de los axones, de forma que las fibras  $A\alpha$  y  $A\beta$  tienen un umbral inferior, es decir, es de entre 10 y 20 veces menor que el de las fibras C (Guyton y Hall, 2001).

**Velocidad de conducción:** Es una propiedad funcional que depende de: A) el grosor del axón, donde las fibras de mayor grosor presentan menor resistencia al flujo longitudinal de corriente iónica, por lo cual la corriente fluye con mayor rapidez en fibras de mayor diámetro que aquellas de pequeño diámetro. B) la presencia de vainas de mielina, que envuelven el axón actúa como un aislante eléctrico que impide la generación del potencial de acción en la región internodal, siendo solo en los nodos de Ranvier donde se puede generar el PAC. De modo que, la velocidad de conducción es mayor en fibras mielínicas que en las fibras amielínicas debido a que el impulso nervioso se transmite saltando de un nodo de Ranvier a otro. (Keynes y Aidley, 1985). Así mismo se sabe que mientras mayor es el grado de compactación de las vainas de mielina la velocidad a la que se conduce el impulso nervioso será mayor, también existe una relación directa de la longitud del segmento internodal con la velocidad de conducción, es decir, a mayor longitud internodal mayor es la velocidad de conducción (Waxman, 1977; Rogart y Ritchie, 1977; Guyton y Hall, 2001).

Como se ha mencionado, las fibras que componen a un nervio muestran variación morfológica y funcional. Por ello, la respuesta eléctrica de un nervio ante un estímulo supraumbral se denomina:

### 1.5 Potencial de acción compuesto

El potencial de acción compuesto es la suma de los potenciales de acción generados en cada uno de los axones que constituyen a un nervio. El PAC puede presentar dos componentes que resultan de la activación de fibras con diferente umbral de activación y distinta velocidad de conducción. La activación de axones miélinicos de bajo umbral de excitación evocan el primer componente (**componente A**), el cual tiene una latencia de aparición muy breve, mientras que el segundo componente (**componente C**) es provocado por la activación de fibras miélinicas de alto umbral ( $A\delta$ ) y fibras amielínicas C, dicho componente tiene una latencia de aparición mayor, debido a que la velocidad de conducción de las fibras ( $A\delta$ ) y fibras amielínicas C es menor que de las fibras A. Es por ello que, este componente solo se observa cuando la corriente aplicada al axón es de 10 a 20 veces la requerida para activar las fibras más excitables del primer componente (ver figura 2; Segura 2003).

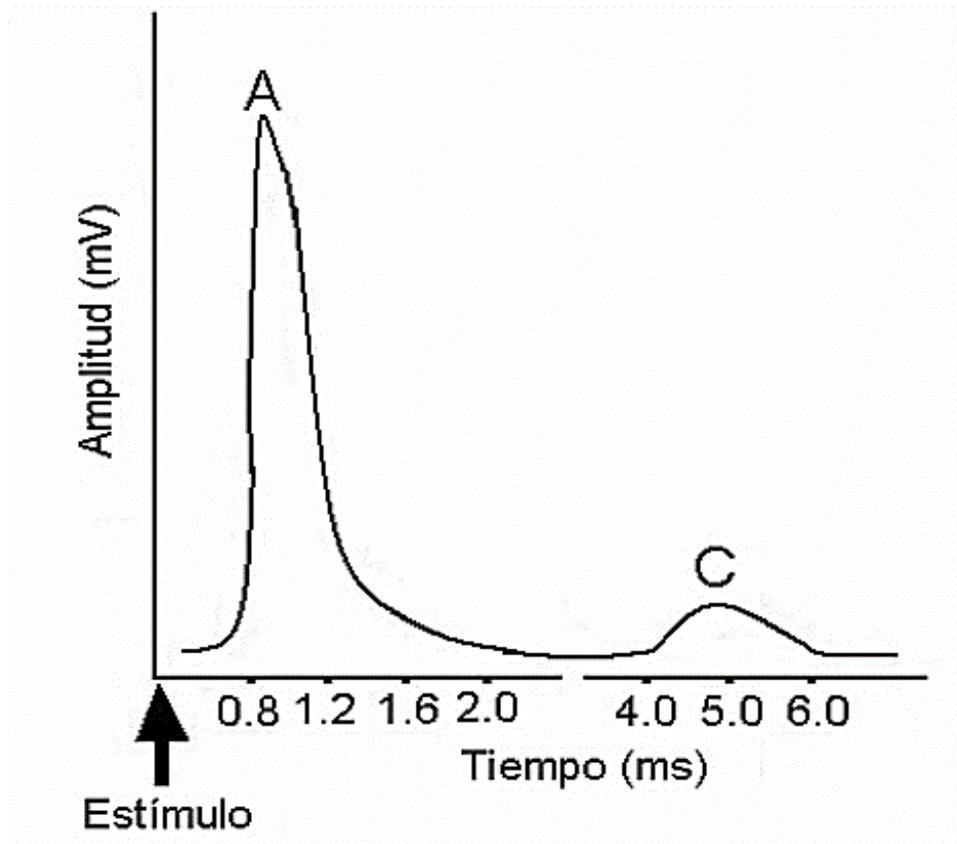


Figura 2. Componentes A y C del potencial de acción compuesto, registrado en el nervio sural de rata (modificado de Segura, 2003).

## **1.6 Descripción anatómica del nervio sural**

El nervio sural (SU) es un modelo de estudio experimental y de fácil acceso. En humanos, el nervio SU se origina del nervio tibial, rama terminal del ciático poplíteo interno en la fosa poplíteo y discurre en forma subfascial entre los vientres musculares de los dos gastrocnemios, acompañado de la vena safena externa. En la unión miotendinosa de los gastrocnemios (tercio medio de la pierna), se hace subcutáneo, perfora la fascia y se conecta algunas veces con el ramo comunicante peroneo que proviene del nervio cutáneo sural lateral o del nervio peroneo común (Nieto, 2009). Dicho nervio envía sus proyecciones al cuarto y quinto dedo del pie, así como tobillo y talón (Moore y Dalley 2002).

Por otro lado, en la rata el nervio SU se origina del nervio peroneo común, a nivel del trocánter mayor del fémur continua en la misma envoltura del nervio peroneo común y tibial hasta el muslo donde se separa la rama lateral del sural que inerva la porción lateral de la pierna. El nervio SU, continua y se hace superficial por el músculo poplíteo entre los músculos, femoral y gastronemio (ver figura 3; Greene, 1959).

El nervio SU contiene fibras aferentes sensoriales mielínicas y amielínicas provenientes de receptores sensoriales localizados en las áreas más distales del pie, inerva la parte lateral y central dorsal de este mismo (Manzo, 1984; Frigeni y cols., 2012; Cobiachi y cols., 2014) así como la porción lateral del quinto dedo de la pata (Greene, 1959) y contiene solo el 4% de fibras motoras (Swett y cols., 1991). Se ha descrito que la estimulación eléctrica en el nervio sural activa los segmentos espinales L6 y S1 (Manzo, 1984). En otro estudio se ha encontrado que las fibras mielínicas provenientes de los segmentos espinales L4, L5 y L6 envían sus proyecciones al nervio SU, siendo L6 la que contribuye en un mayor porcentaje (Sutachán y cols., 2000).

El nervio SU se caracteriza por presentar una simetría lateral y longitudinal, es decir, no difiere morfológicamente en los segmentos proximal y distal, tampoco en el lado izquierdo y derecho (Jerónimo y cols., 2005; Neri y cols., 2015).

Debido a que el nervio SU contiene en su mayoría fibras aferentes sensoriales constituye un buen modelo para evaluar el efecto de los estímulos sensoriales y/o sociales provenientes de la madre y hermanos de camada durante el periodo postnatal sobre las propiedades electrofisiológicas de dicho nervio.



- 1.- N. Ciático
- 2.- N. Peroneo común
- 3.- N. Tibial
- 4.- N. Sural lateral
- 5.- N. Sural interno
- 6.- N. Sural externo
- 7.- N. Sural
- 8.- M. Gastronemio
- 9.- M. Semitendinoso
- 10.- M. Semimembranoso
- 11.- M. Caudofemoral

Figura 3. Extremidad posterior de una rata en la que se señala la localización del nervio sural (SU) además músculos y nervios que circundan (modificado de Greene, 1959).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Experiencia temprana y su efecto sobre el sistema nervioso periférico

Los estudios enfocados en determinar la participación de la experiencia temprana sobre el desarrollo del SNP son pocos y han sido realizados en la rata macho. Por ejemplo, se ha encontrado que la exposición repetida de estímulos sensoriales excesivos o nociceptivos durante el período postnatal (PPN) temprano produce cambios en la sensibilidad hacia estímulos sensoriales e incluso contribuye a la presencia de dolor crónico en la etapa adulta (Marcus, 2006). Por otro lado, ratas adultas que recibieron mayores estimulaciones táctiles durante el PPN manifiestan menor sensibilidad al dolor térmico (Sternberg y Ridway, 2003). En contraste, machos adultos que fueron criados por madres que proveen pocos lamidos a las crías, presentan mayor sensibilidad al dolor térmico (Walker y cols., 2008). Este efecto se ha replicado utilizando otro modelo animal, es decir, crías machos CA, cuando adultos muestran mayor sensibilidad al dolor ante pruebas de formalina (Madeiros y cols., 2009), así como un retraso en el componente N1 del potencial auditivo en comparación con las ratas criadas por su madre (Kaneko y cols., 1997).

El período postnatal pre-destete, es crítico para el desarrollo de la progenie, la principal fuente de estímulos táctiles y sociales es la madre. Como se describió anteriormente, la experiencia temprana afecta negativamente y a largo plazo la sensibilidad al dolor, sin embargo, poco se conoce acerca del efecto de dichas experiencias sobre el desarrollo de las vías sensoriales aferentes (sistema nervioso periférico) que transmiten la información sensorial táctil y del dolor desde la periferia. Esto origina la pregunta ¿la falta de percepción de los estímulos sensoriales provenientes del ambiente materno por parte de las crías durante el periodo postnatal predestete afectará el desarrollo de sistema nervioso periférico?

Con la finalidad de responder la pregunta anterior en un estudio reciente evaluamos el efecto de la CA sobre las propiedades electrofisiológicas del potencial de acción compuesto (PAC) del nervio sensorial SU. Es decir, el umbral eléctrico de activación, la amplitud, el área y la velocidad de conducción del PAC en el nervio SU de machos adultos CA. En dicho estudio se encontró que la amplitud y el área del PAC de los nervios de crías macho CA de 14 y 21 días postnatales (DPN), pero no de 7 DPN, es menor que el registrado en los nervios de las crías criadas por su madre (Grupo Control

o CM; Moreno-Pérez, 2015; Ramirez-Funez, 2015; Zempoalteca y cols., 2017; ver figura 4).

Del mismo modo, Segura y colaboradores (2014) analizaron las propiedades electrofisiológicas del PAC en ratas macho adultas. Encontraron que la amplitud y área normalizada del PAC de nervios del grupo CA fue menor al que presentaron los nervios del grupo CM (ver tabla 1 y figura 5).

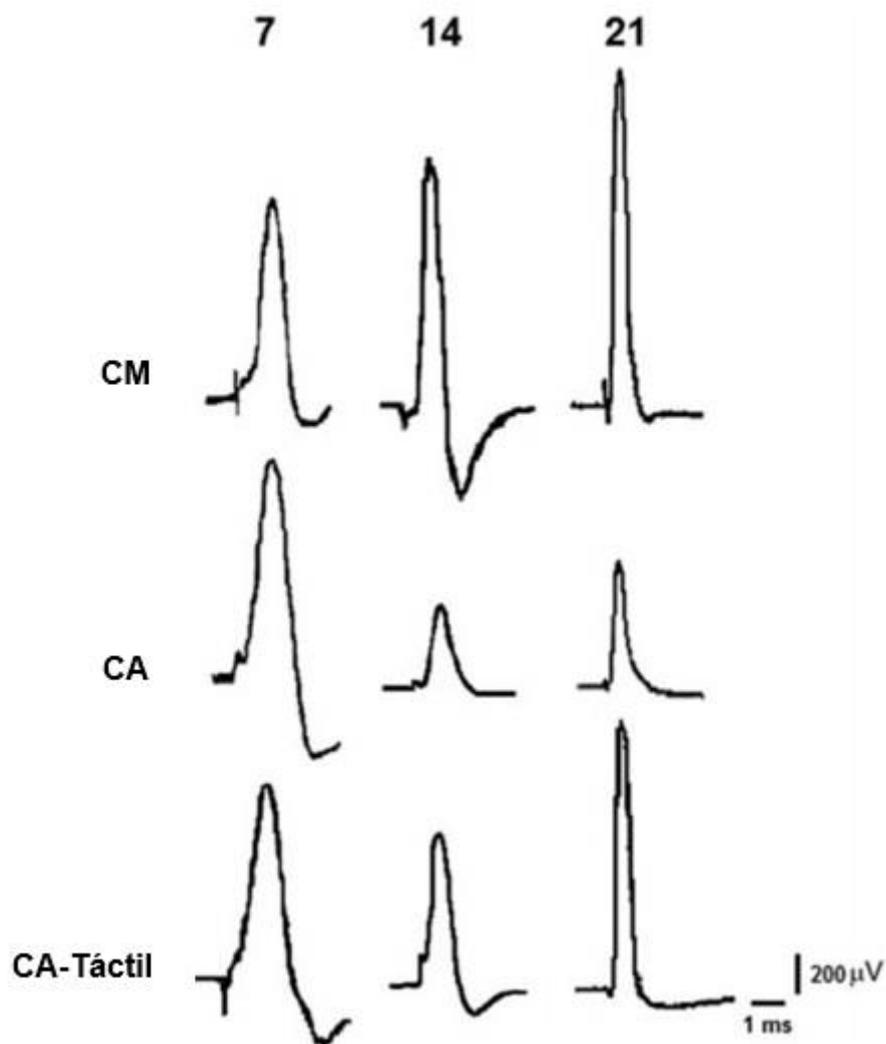


Figura 4. A) Potencial de acción compuesto (PAC) del nervio sural de ratas macho de 7, 14 y 21 días de edad criadas por su madre (CM) criadas artificialmente (CA) y criadas artificialmente con estimulación táctil (modificado de Zempoalteca y cols., 2017).

Tabla 1. Características electrofisiológicas obtenidas del nervio SU de ratas control y experimentales.

	<b>CM</b>	<b>CA</b>	<b>CA-Social</b>
Umbral eléctrico ( $\mu\text{A}$ )	$22.3 \pm 7.6$	$23.2 \pm 7.7$	$26.4 \pm 8.2$
Amplitud del PAC ( $\mu\text{V}$ )	$2446 \pm 445.9$	$375.6 \pm 182.9^*$	$1732.8 \pm 652.2^+$
Área del PAC ( $\mu\text{V/s}$ )	$1350.5 \pm 293.5$	$227.4 \pm 121.5^*$	$1252.1 \pm 310.3$
Anchura media (ms)	$0.45 \pm 0.1$	$0.46 \pm 0.08$	$0.54 \pm 0.07$
Velocidad máxima (m/s)	$57.8 \pm 11.4$	$54.5 \pm 8.3$	$53.3 \pm 8.9$
Velocidad promedio (m/s)	$28.4 \pm 4.7$	$27.1 \pm 4.3$	$22.6 \pm 3.5$

\*, + indican diferencias estadísticas entre ratas criadas artificialmente (CA) y CA en convivencia con dos conespecíficos de la misma edad (CA-Social) con respecto al grupo de ratas criadas por su madre (CM; modificado de Segura y cols., 2014).

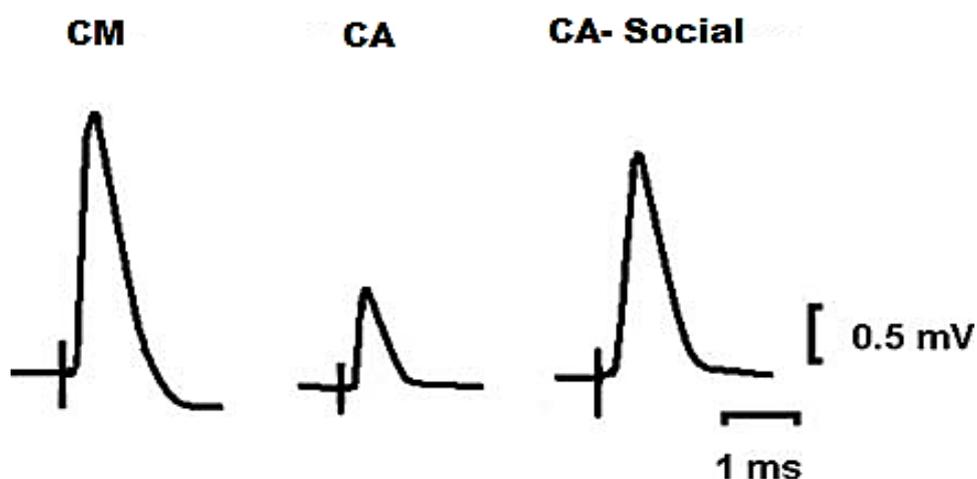


Figura 5. Potencial de acción compuesto (PAC) del nervio (SU) de ratas macho adultas criadas por su madre (CM) criadas artificialmente (CA) y CA en convivencia con dos congéneres (CA-Social) (modificado de Segura y cols., 2014).

Además, con el conocimiento de que la mielina participa en la propagación del impulso nervioso (Waxman y cols., 1995), en estos trabajos se determinó el grosor de mielina, el área y el diámetro de los axones del nervio sural de ratas macho adultas. Se encontró que el grosor de mielina el área y el diámetro de los axones del nervio SU de machos CA fue significativamente menor al mostrado por los nervios de machos CM (Segura y cols., 2014; Figura 6 y tabla 2) y en crías de 14 y 21 DPN (Zempoalteca y cols., 2017; Porras Villalobos y cols., 2016). Por otro lado, la adición de dos crías de madres donadoras (Segura y cols., 2014) o de estímulos táctiles (Moreno-Pérez, 2015; Ramirez-Funez, 2015; Porras Villalobos y cols., 2016; Zempoalteca y cols., 2017) durante el aislamiento previno parcialmente los efectos de la CA, es decir, la amplitud y área del PAC del nervio SU de ratas macho adulta CA-Sociales fue significativamente mayor

que el de los CA pero relativamente menor que el de los CM, sin embargo, no mostraron diferencias significativas; ver tabla 1 y figura 5).

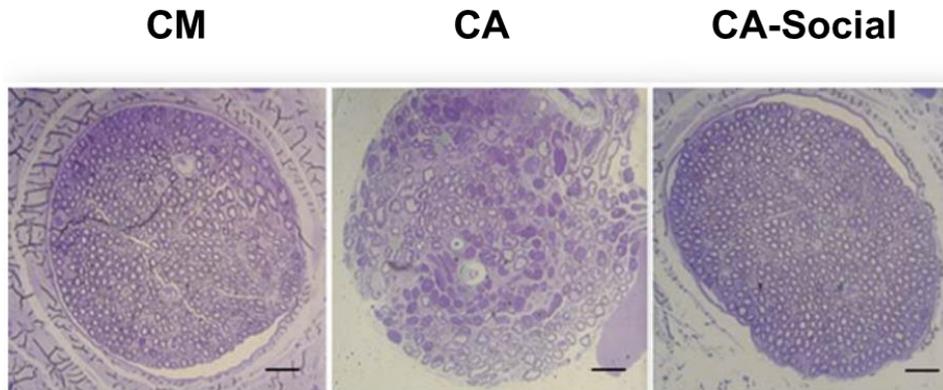


Figura 6. Micrografías de secciones transversales obtenidas del nervio SU de ratas CM, CA y CA-Social (modificado de Segura y cols., 2014).

Tabla 2. Características electrofisiológicas del nervio SU de ratas adultas control y experimentales.

Ratas	4	4	4	
Número de nervios	5	5	5	
	Número de axones	Área del axón	Diametro del axón	Grosor de mielina
<b>CM</b>	1064 ± 162	97.8 ± 1.1	10.7 ± 0.06	7.2 ± 0.64
<b>CA</b>	999.5 ± 95	57.9 ± 0.9*	8.0 ± 0.07*	5 ± 0.43*
<b>CA-Social</b>	1095 ± 143	70.7 ± 0.8 <sup>+</sup>	8.9 ± 0.05 <sup>+</sup>	6.4 ± 0.62

\* <sup>+</sup> indican diferencias estadísticas entre CA y CA-Social con respecto al grupo CM (modificado de Segura y cols., 2014).

Estos datos apoyaban la hipótesis de que la experiencia temprana negativa afecta el desarrollo del sistema nervioso periférico en machos, pero se desconoce qué ocurre en la hembra. A pesar de que se ha mostrado que la experiencia temprana afecta la expresión de la conducta materna (Melo y cols., 2006, 2009), así como la expresión de c-fos en las áreas cerebrales involucradas (Gonzalez y Fleming, 2002). Existen pocos estudios encaminados a evaluar la participación de dicha experiencia en el desarrollo del sistema nervioso periférico en la hembra. La evidencia que sugiere que el sistema nervioso periférico es afectado por la experiencia temprana es indirecta y proviene de estudios enfocados sobre el desarrollo del dimorfismo sexual cerebral. Se sabe que las hormonas sexuales durante el periodo perinatal son preponderantes en la diferenciación cerebral entre machos y hembras. Se ha encontrado que la inducción de anosmia (por administración intranasal de sulfato de zinc) en las madres reduce la cantidad de lamidos hacia sus crías, y provoca alteración negativa en dichos procesos (Moore y

Power KL, 1992a; Moore y cols., 1992b). También se sabe que la madre provee mayor estimulación anogenital a crías hembra si experimentalmente se les pone orina de crías macho u homogenado de glándula prepucial en la región anogenital (Moore, 1992a). Esta diferencia en la estimulación anogenital, mayor hacia las crías macho que a las hembras, favorece la manifestación de la conducta copulatoria masculina (Moore, 1984). Sin embargo, se desconoce cuál es el papel de dichos estímulos en el desarrollo de las crías hembras.

Otra evidencia que muestra diferencias morfológicas del sistema nervioso periférico entre los sexos se ha observado en los ganglios de la raíz dorsal que proporcionan la inervación sensorial a “músculos blanco” del núcleo espinal bulbocavernoso. Existen más neuronas sensoriales en los ganglios de las raíces dorsales de los segmentos espinales lumbar 6 y sacra 1 en machos adultos que en hembras (Mckenna y Nadelhaft, 1986). De igual modo, se ha encontrado que el nervio hipogástrico en las ratas macho tiene tres veces más neuronas preganglionares simpáticas que en hembras (Nadelhaft y Mckenna, 1987). Estos datos sugieren que las diferencias neuroanatómicas entre los sexos se deben a una exposición hormonal y/o sensorial diferente en etapas muy tempranas de la vida. El hecho de que los machos sean expuestos en el período peri-parto a hormonas sexuales y a estímulos táctiles (anogenitales y corporales) hace sugerir que otros componentes del sistema nervioso podrían ser también modificados. Si algunas neuronas eferentes tanto motoras como simpáticas muestran diferencias entre hembras y machos, cabe esperar que, también las neuronas sensoriales presenten diferencias entre los sexos. El nervio sural que es en su mayoría sensorial (solo el 4% son fibras motoras) podría estudiarse para responder las siguientes preguntas; ¿Cuál es el efecto del aislamiento social temprano por efecto de la crianza artificial sobre las propiedades electrofisiológicas del PAC del nervio SU de ratas hembra adultas? y ¿cómo influyen los estímulos táctiles durante el aislamiento social temprano sobre las propiedades electrofisiológicas del PAC del nervio SU de ratas hembra adultas?

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Los datos anteriores muestran que la estimulación táctil y/o social durante el período postnatal temprano es importante para el desarrollo morfológico y funcional del nervio sural del macho. A pesar de que se ha mostrado que el aislamiento social temprano también afecta a nivel conductual y morfológico a las hembras, se desconoce qué le sucede al nervio sural de la hembra.

El presente estudio aportará conocimiento importante acerca del efecto que causa el aislamiento social temprano y los estímulos táctiles durante dicho aislamiento sobre las propiedades electrofisiológicas del nervio sural de ratas hembra adulta.

#### **4. HIPÓTESIS**

**Hipótesis1.-** El aislamiento social temprano a través de la CA, afecta las propiedades electrofisiológicas del nervio SU de ratas hembra adulta.

**Hipótesis 2.-** La estimulación táctil durante el aislamiento social temprano previene los efectos de la CA sobre las propiedades electrofisiológicas del PAC de ratas hembra adulta.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo general**

Determinar el efecto que provoca el aislamiento total temprano y la estimulación táctil durante dicho aislamiento sobre las propiedades electrofisiológicas del PAC del nervio SU de ratas hembra adultas.

### **5.2 Objetivos particulares**

- 1) Analizar las propiedades electrofisiológicas del PAC registrado en el nervio SU de ratas hembra adulta criadas por su madre y criadas artificialmente.
- 2) Evaluar cómo influye la estimulación táctil durante el aislamiento social temprano sobre las propiedades electrofisiológicas del PAC del nervio SU de ratas hembra adulta.

## 6. METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas hembras primíparas de la cepa Wistar adultas provenientes del bioterio del Centro de Investigación en Reproducción Animal, CINVESTAV-Laboratorio Tlaxcala, Universidad Autónoma de Tlaxcala para proveer crías que fueron sometidas a distintos experimentos.

### 6.1 Grupos experimentales

El día del parto (día 0), se ajustó la camada y cuatro días después (día 4 postnatal; DPN), 3 hembras fueron separadas del nido, se registró su peso y se asignaron a los siguientes grupos; 1) Criadas por su madre (CM) durante el periodo de experimentación, 2) Aislados (CA), 3) Aislados + 5 estimulaciones táctiles (corporales-anogenitales) diarias con un pincel de cerdas finas (CA-Táctil) ver figura 7.

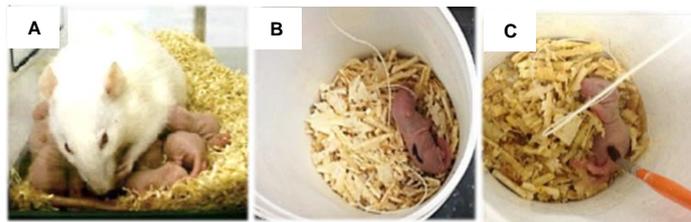


Figura 7. Fotografías de los grupos experimentales. A) Crías criadas por su madre, B) cría aislada (CA). C) cría aislada que recibió 5 estimulaciones táctiles durante el día, 90 segundos por (CA-Táctil).

### 6.2 Implante de catéter y crianza artificial

Crías de 4 DPN fueron implantadas con un catéter en la mejilla y posteriormente, alojadas individualmente en recipientes de plástico flotando dentro de un contenedor lleno de agua caliente (36-40°C), dentro de un cuarto mantenido a 24-25°C y con humedad de 46-48%. El catéter PE10 se conectó a otro catéter de mayor calibre (PE50), y éste a una jeringa de 10ml que contenía leche artificial. La jeringa fue montada en una bomba de infusión (HARVARD PH-2000, programable), la cual infundió leche durante 10 minutos, cada hora, las 24 horas del día. El primer día de aislamiento (día postnatal 4), recibieron un volumen de leche igual al 33% de peso corporal promedio. Cada mañana las crías se desconectaron de la bomba, los catéteres fueron limpiados, las jeringas se remplazaron y las crías se conectaron nuevamente a la bomba. La velocidad de infusión fue calculada nuevamente de acuerdo con el peso promedio de las crías. Las crías recibieron diariamente dos estímulos anogenitales con un pincel de cerdas finas

húmedo durante 30 segundos para inducir la micción y la defecación (8 a.m. y 8 p.m., ver figura 8). En el DPN 22 las crías fueron destetadas (tanto aquellas criadas por su madre como las mantenidas en el sistema de crianza artificial) y alojadas en cajas de acrílico con dos o tres co-específicos de la misma edad y se inició la transición de ingestión alimenticia con una mezcla de fórmula láctea y alimento pulverizado.



Figura 8. Fotografía del sistema de crianza artificial.

### **6.3 Preparación de leche artificial**

La fórmula de la leche proviene de la Universidad de Iowa (Dieta Messer; Messer y cols., 1969), dicha fórmula contiene:  $ZnSO_4$ ,  $CuSO_4$ ,  $FeSO_4$ ,  $KCl$ ,  $MgCl$ , leche evaporada Carnation, agua estéril, proteína de soya, aceite de maíz, metionina, triptófano, vitamina Mix, fosfato de calcio tribásico y ácido deoxycólico. Todos los reactivos (provenientes de Sigma) fueron pesados y mezclados, para su pasteurización se emplearon 90 min y finalmente se mantuvo en refrigeración a 4°C.

### **6.4 Registro del ciclo estral de las ratas**

A la edad de 2 ½ meses las hembras fueron sometidas a frotis vaginales diariamente entre las 8:30 y 10:00 durante dos semanas con la finalidad de detectar la fase de diestro. A los 3-4 meses de edad se realizaron los registros del PAC en la fase de diestro cuando los niveles de esteroides sexuales son basales (estradiol 15-20 ng/ml y progesterona 5-10 ng/ml en la rata; Smith y cols., 1975) y de esta manera evitar confusiones en la interpretación de los resultados.

### **6.5 Registro del potencial de acción compuesto en nervio sural**

Las hembras adultas en fase de diestro fueron anestesiadas con uretano (1.6 g/Kg de peso), administrado vía intraperitoneal. Posteriormente, se llevó a cabo la disección del nervio SU, se hizo una incisión en la línea media posterior de la pierna desde la región

poplítea al nivel del maléolo lateral, se profundizó entre los músculos gastronemios. Inmediatamente después de la disección, el nervio SU se colocó en una cámara de registro con solución Krebs (NaCl 128, KCl 3, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5, CaCl<sub>2</sub> 1.5, MgSO<sub>4</sub> 1, NaHCO<sub>3</sub> 21, Glucosa 30 mM) saturada con carbógeno (95% O<sub>2</sub> 5% CO<sub>2</sub>), a 37°C y a pH 7. Los animales fueron sacrificados con una sobredosis de uretano.

Posteriormente para la estimulación eléctrica un extremo del nervio se introdujo en un electrodo de estimulación, construido con un capilar de vidrio, un alambre de plata en su interior y rodeando con un alambre de plata con aislante en su exterior (excepto en la punta), cuidando que el nervio SU quede en contacto con la punta de plata interna y externa. Este electrodo se conectó a un generador de corriente Digitimer DS3, con el que se aplicaron pulsos de corriente de intensidad variable ( $\mu$ A), de frecuencia fija (Hz) y duración de 0.05 ms. El registro del PAC se efectuó mediante un electrodo de registro construido con un capilar de vidrio y un alambre de plata en su interior, en dicho electrodo se introdujo el otro extremo del nervio. Este electrodo fue conectado a un amplificador (GRASS P511AC), el cual a su vez se conectó a un osciloscopio (Tektronix TDS2024C). Se conectó una USB al osciloscopio para guardar los PAC'S (figura 9).

El umbral eléctrico (1U) de los nervios se estableció como la corriente eléctrica mínima necesaria para generar el PAC. La respuesta máxima del PAC en los nervios SU se obtuvo al incrementar gradualmente la intensidad del estímulo (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7xU). A partir del PAC se determinó lo siguiente:

**Amplitud.** - se obtuvo al medir la magnitud al pico máximo que alcanza la respuesta del PAC.

**Área.** - se calculó mediante la fórmula  $A = ((L_p - L_i) * \text{Amplitud}) * 2$ ; donde A, es el área bajo la curva del PAC, L<sub>p</sub> es la latencia al pico del PAC, L<sub>i</sub> la latencia inicio del PAC.

**Velocidad de Conducción máxima.** - se calculó mediante la fórmula  $V = d / L_i$ ; donde V, es la velocidad de conducción máxima del PAC, d es la longitud del nervio aislado y L<sub>i</sub>, es la latencia inicio del PAC.

**Velocidad de Conducción promedio.** - se calculó mediante la fórmula  $V = d / L_p$ ; donde V, es la velocidad de conducción promedio del PAC, d es la longitud del nervio aislado y L<sub>p</sub>, es la latencia al pico del PAC.

**Anchura del PAC.** - se obtuvo al medir el tiempo que tarda en mantenerse la respuesta del PAC, es decir, desde que inicia la respuesta del PAC hasta que cae.

**Anchura media del PAC.** - se obtuvo al medir el intervalo de tiempo a la mitad del PAC (figura 10).

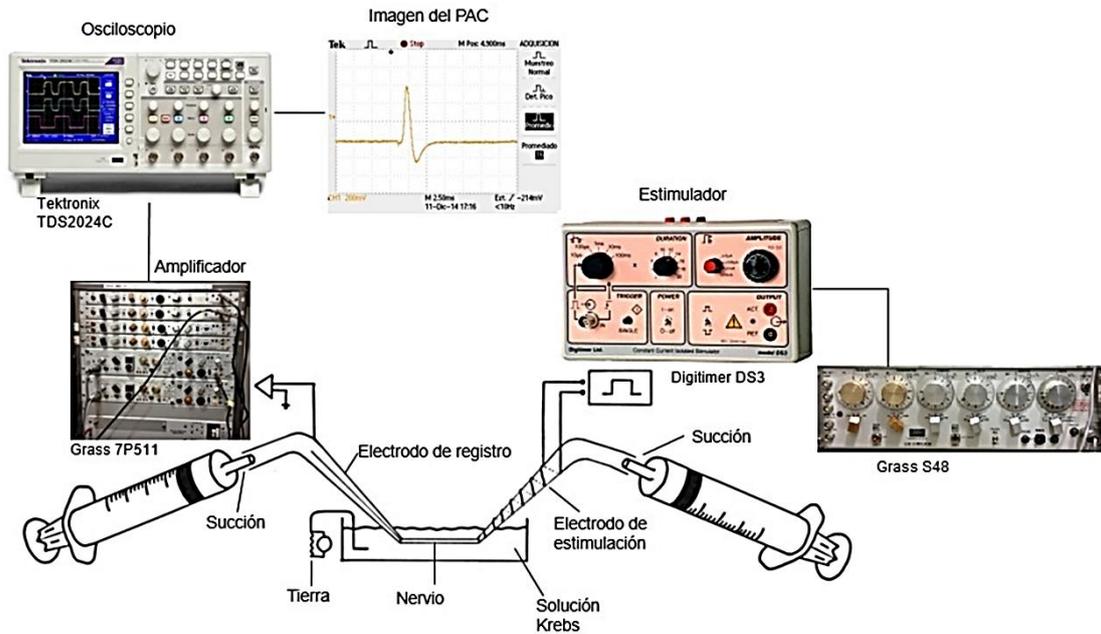


Figura 9. Sistema de registro electrofisiológico *in vitro* del nervio Sural.

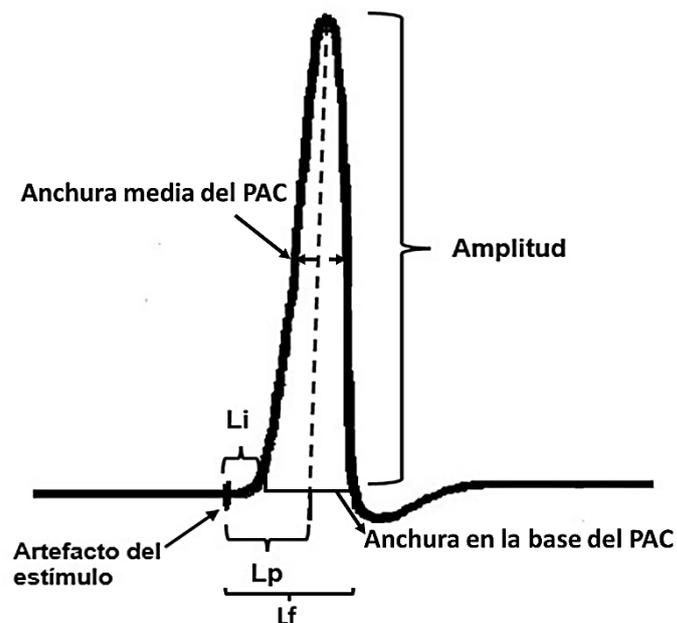


Figura 10. Representación de los parámetros que se obtienen del PAC.

## **6.6 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos se analizaron mediante la prueba ANOVA de una vía seguido de la prueba de Tukey para datos independientes con la ayuda del paquete de análisis estadístico SPSS (versión 19.0 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL). Los datos se expresan como media  $\pm$  E.E y  $p < 0.05$  se consideró significativo.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Peso corporal

El día del registro electrofisiológico del nervio SU, las ratas CM, CA y CA-Táctiles fueron pesadas. Los valores obtenidos en el peso corporal de ratas tanto CM como CA y CA-Táctiles no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos. El peso corporal de las ratas CM fue de  $257.140 \pm 3.934$  g, el de las ratas CA fue de  $250.200 \pm 5.109$  y el peso obtenido de las ratas CA-Táctiles fue de  $257.300 \pm 4.34$ . Esto excluye la posibilidad de que la respuesta electrofisiológica del nervio SU esté relacionada con el peso corporal de los animales (figura 11).

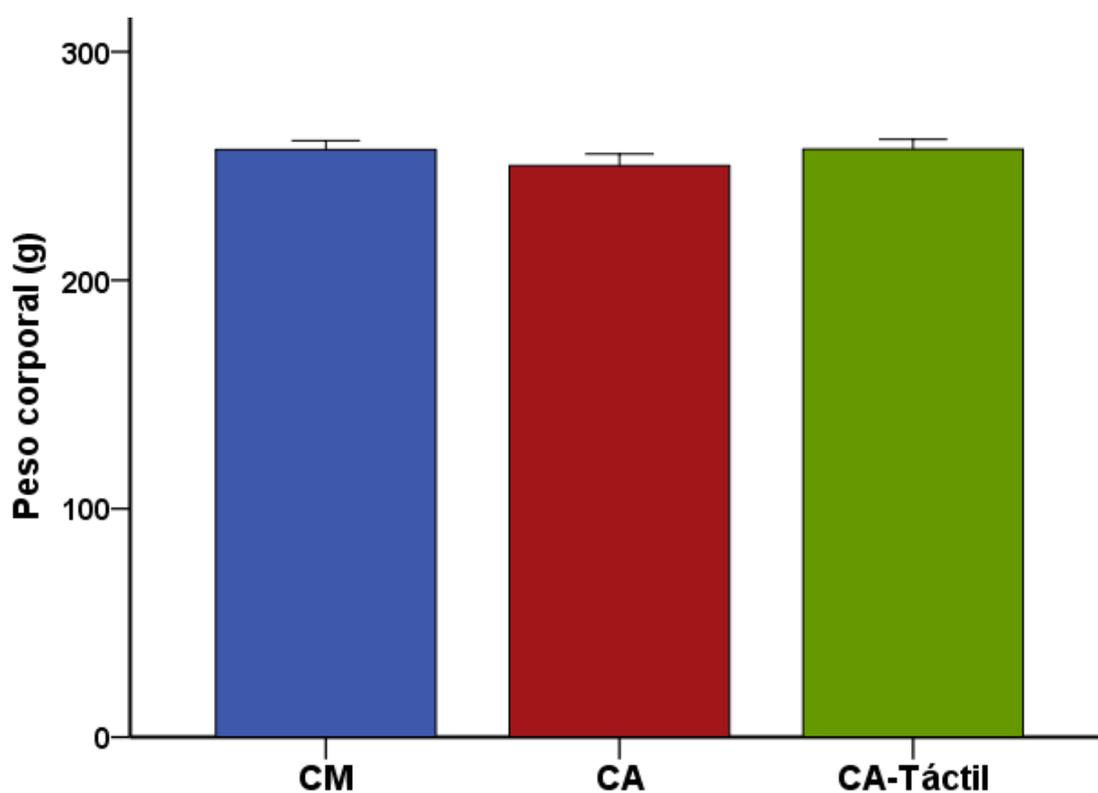


Figura 11. Peso corporal obtenido el día del registro del nervio SU en ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. Medias  $\pm$  E.E y  $p < 0.05$  se consideró significativo.

## 7.2 Propiedades electrofisiológicas del potencial de acción compuesto del nervio sural de ratas hembra adultas criadas por su madre, criadas artificialmente y criadas artificialmente más estimulación táctil.

Los estímulos que se aplicaron fueron de duración constante (0.05 ms) y diferente intensidad umbral (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7xU). Esta estimulación eléctrica en el nervio SU permitió la excitación gradual de las fibras nerviosas hasta alcanzar la respuesta máxima del PAC.

### 7.2.1 Umbral eléctrico de activación

El umbral eléctrico de activación se estableció como la cantidad de corriente eléctrica necesaria para activar las fibras más excitables y en consecuencia generar la mínima respuesta del PAC. Los resultados obtenidos del umbral eléctrico de activación (1xU) no mostraron diferencias significativas entre los grupos. La cantidad de corriente necesaria para generar la mínima respuesta del PAC en los nervios de ratas CM fue de  $16.55 \pm 3.647 \mu\text{A}$ , la requerida en los nervios de ratas CA fue de  $17.150 \pm 6.226 \mu\text{A}$  y CA-Táctiles fue de  $16.750 \pm 1.863 \mu\text{A}$  (figura 12). Estos resultados sugieren que el tipo de crianza no afecta la excitabilidad al menos de las fibras más excitables.

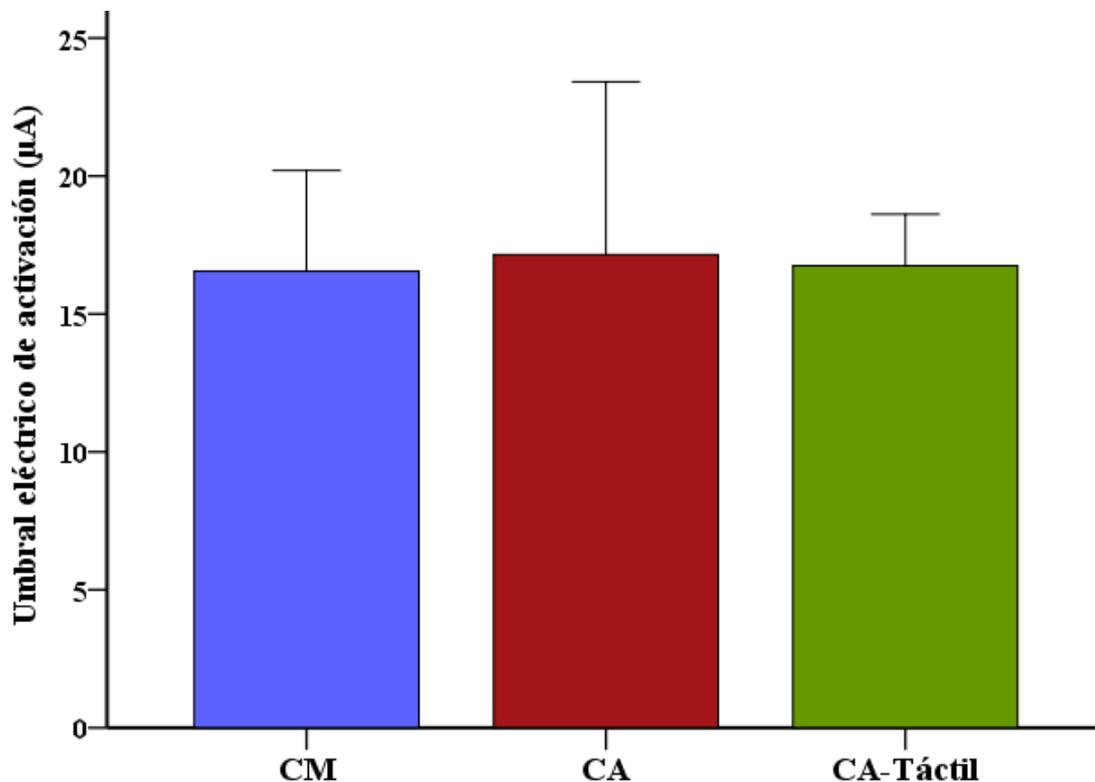


Figura 12. Umbral eléctrico de activación. Media  $\pm$  E.E., CM; n=10, CA; n=10, CA-Táctil; n=10.

### 7.2.2 Amplitud y área del potencial de acción compuesto

La amplitud se obtuvo al medir la magnitud al pico máximo del PAC, dicha respuesta depende del número de axones activados en un tiempo determinado, así como de las propiedades funcionales de los axones. El área del PAC depende de la densidad poblacional de fibras axónicas activadas después de recibir el estímulo.

En la figura 13 se muestran los registros representativos del PAC obtenidos del nervio SU de una rata CM, una CA y una CA-Táctil. Conviene señalar que cada registro es el promedio de 16 estímulos. Se puede apreciar claramente un incremento gradual del PAC alcanzando su máxima respuesta hasta 7xU, esto es porque a medida que incrementa la intensidad del estímulo se van excitando los axones de bajo umbral de activación, mielínicos y con gran velocidad de conducción.

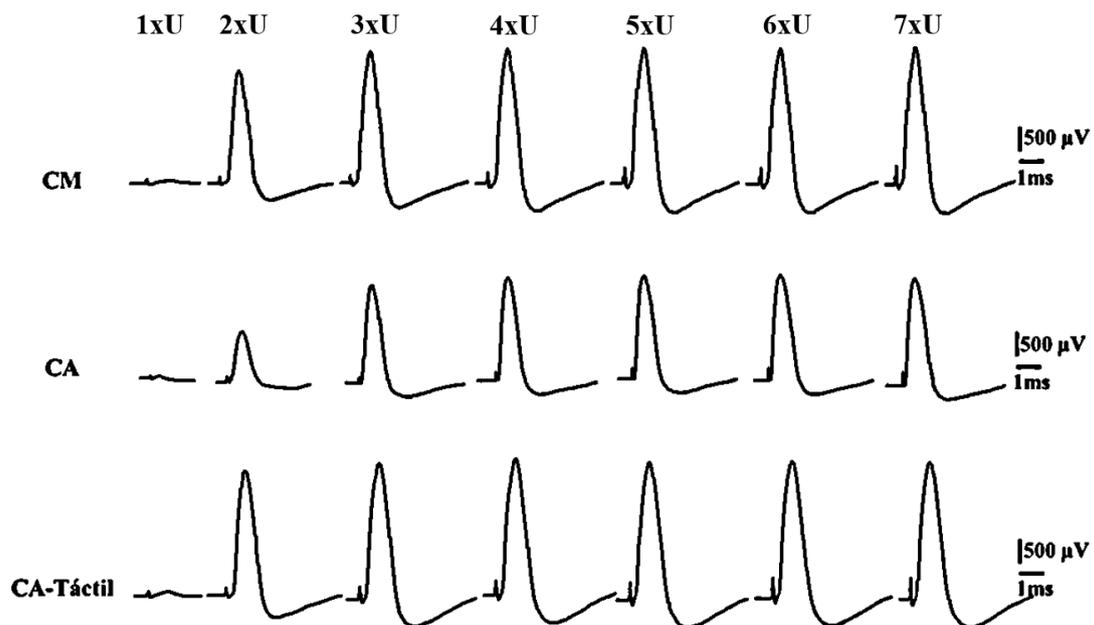
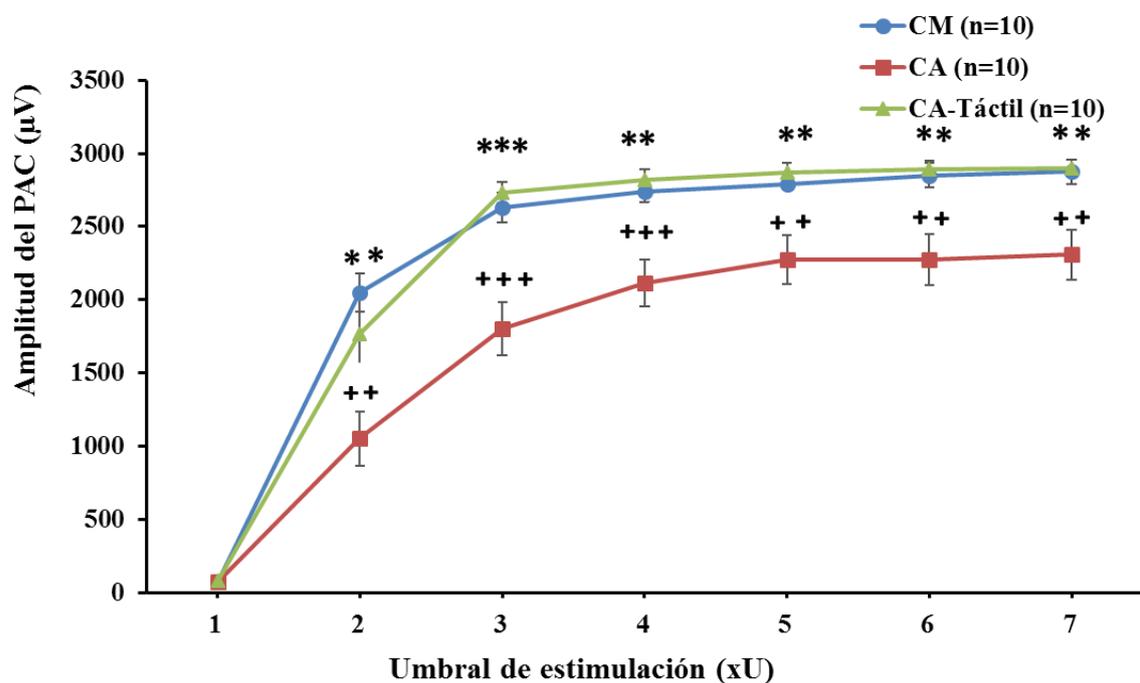


Figura 13. Registros representativos del PAC (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7U) obtenidos en el nervio SU de una rata CM, CA y CA-Táctil, en cada uno de los que se puede observar el efecto provocado por el aislamiento social temprano y la estimulación táctil sobre el PAC.

Los resultados obtenidos muestran que la amplitud registrada en nervios de ratas CA es significativamente menor que lo registrado en nervios de ratas CM, esta diferencia es evidente a partir de 2xU hasta 7xU y dicha diferencia fue más marcada en 3xU (amplitud CA=1801.000 ± 181.453, amplitud CM=2630.000 ± 100.366, p=0.001). Por otro lado, la amplitud del PAC de nervios de ratas CA-Táctiles y CM no difieren significativamente, nuestros resultados muestran una notable similitud en la amplitud del PAC de los nervios de ratas CM y CA-Táctiles (amplitud 3xU; 2630.000 ± 100.366 vs 2732.000 ± 74.963, respectivamente). En cuanto a la amplitud del PAC de nervios de ratas CA y CA-Táctiles si mostraron diferencias significativas, es decir, la amplitud del PAC de los nervios de ratas CA es menor que la amplitud registrada en los nervios de ratas CA-Táctiles, esta diferencia es a partir de 2xU y se mantiene hasta su máxima respuesta. La diferencia es más notable en 3xU (con valores de amplitud de CA= 1801.000 ± 181.453 vs 2732.000 ± 74.963, p=0.001; ver figura 14). Para ejemplificar mejor el efecto de la experiencia temprana sobre en la amplitud del PAC, en la figura 15 se muestra la amplitud del PAC evocada por la aplicación de estímulos de corriente de 3



veces umbral (3xU), en el nervio SU de ratas CM.

Figura 14. Amplitud del PAC registrado en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10 por umbral (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7xU). Los asteriscos (\*) indican diferencias significativas del grupo CA con respecto a CM, p≤0.05\* p≤0.01\*\* p≤0.001\*\*\*. La cruz (†) indican diferencias significativas del grupo CA vs CA-Táctil, p≤0.05† p≤0.01†† p≤0.001†††. Se muestran medias ± E.E

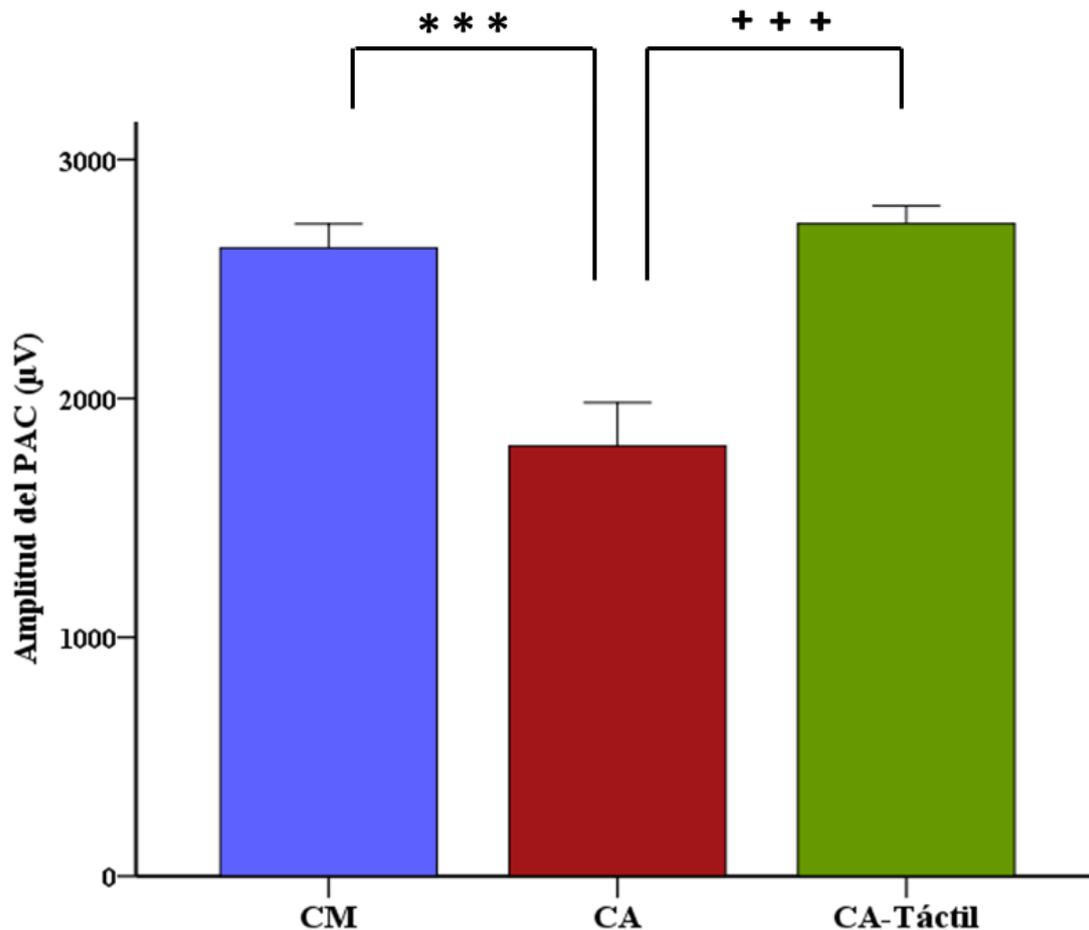


Figura 15. Representación gráfica de la amplitud del PAC evocada por la aplicación de estímulos de corriente de 3 veces umbral (3xU), en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. Se observan diferencias estadísticamente significativas del grupo CA con respecto a los CM (\*p=0.001) y CA con respecto a CA-Táctil (+p=0.001) pero no entre CA-Táctil con respecto a CM. Los valores se expresan en media  $\pm$  E.E.

Por otra parte, los resultados obtenidos en el área del PAC registrado en los nervios de ratas CA muestran una disminución significativa en el 2xU con valor de  $1021.088 \pm 267.511$  en comparación con lo registrado en el grupo CM con valor de  $2084.480 \pm 211.922$  y  $p=0.025$ . Conviene señalar que, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el área del PAC entre CA y CM a partir del 3xU al 7xU, es menor en CA respecto al del grupo CM ( $p \leq 0.055$ ). El área del PAC de los nervios de ratas CA-Táctiles fue mayor al de las ratas CA, aunque no mostraron diferencias significativas. Además, los datos fueron similares a los de las ratas CM (figura 16). En la figura 17 se muestra el área del PAC para 3xU. Estas observaciones en la amplitud y el área del PAC nos permiten sugerir que la cantidad de axones activados disminuye en los nervios de ratas CA pero no en aquellos nervios de ratas que durante el aislamiento recibieron estimulación corporal (CA-Táctil) y de las ratas CM ya que la amplitud y el área del PAC de nervios de ambos grupos son similares.

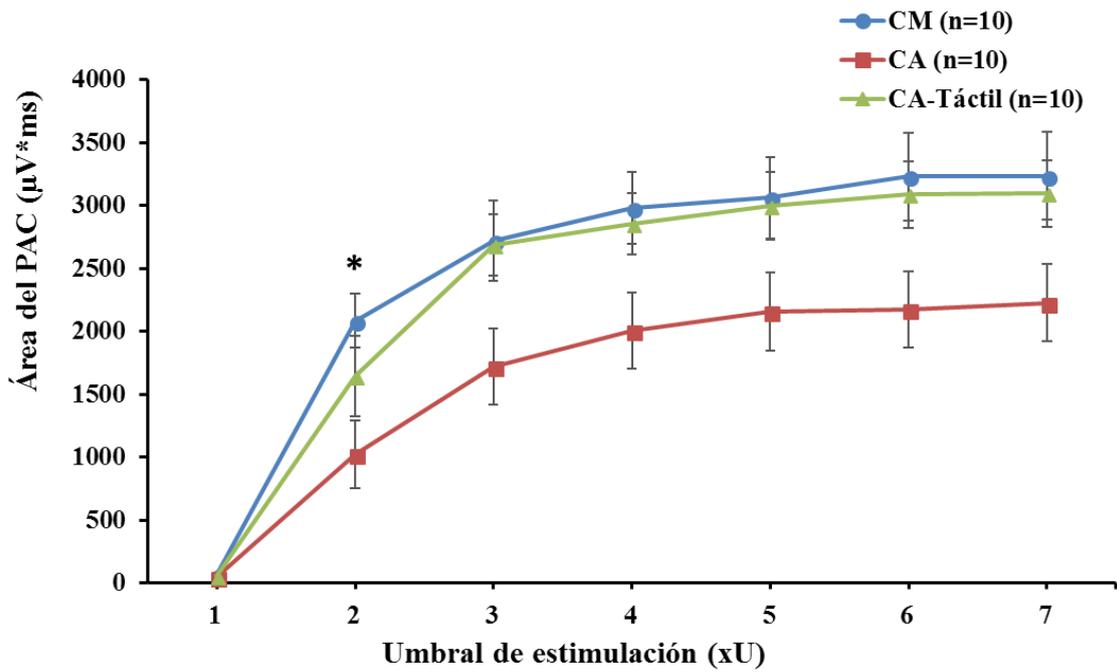


Figura 16. Área del PAC registrado en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10y CA-Táctil; n=10 por umbral (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7xU). El asterisco (\*) indica diferencias significativas del grupo CA con respecto a CM Se muestran medias  $\pm$  E.E y  $p < 0.05$  se consideró significativo.

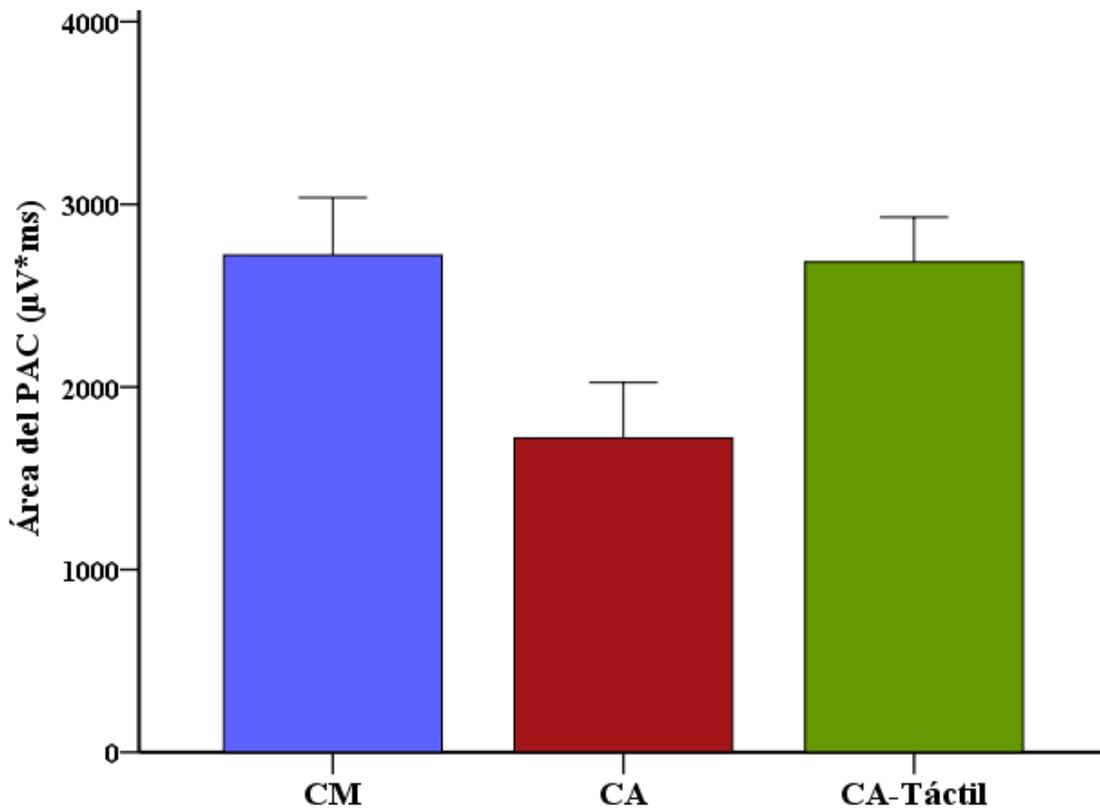


Figura 17. Representación gráfica del área del PAC evocada por la aplicación de estímulos de corriente de 3xU, en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, sin embargo, se puede apreciar que el área del PAC del grupo CA con respecto a los CM es menor, aunque no significativo ( $p=0.055$ ). En cambio, el área del PAC de CA-Táctil es similar a lo encontrado en el grupo CM. Los valores se expresan en media  $\pm$  E.E.

### 7.2.3 Latencia de inicio, latencia pico y latencia final del potencial de acción compuesto

Para evaluar en detalle el efecto del aislamiento social y la estimulación táctil sobre la velocidad de conducción del PAC analizamos primero la *latencia inicio*, después la *latencia pico* y finalmente la *latencia final* del PAC.

La *latencia de inicio* del PAC es el intervalo de tiempo desde que se aplica el estímulo eléctrico hasta observar la primera respuesta del PAC, esta latencia representa el tiempo que tardan en responder las fibras más excitables que componen el nervio después de un estímulo sub-umbral. En cuanto a la *latencia pico* es el intervalo de tiempo desde que se aplicó el estímulo hasta el alcanzar el pico máximo del PAC. Ésta se caracteriza por ser el tiempo en el que todos los axones de gran diámetro y que conducen a gran velocidad son reclutados. De la misma manera la *latencia final* del PAC es el intervalo de tiempo desde que se aplicó el estímulo hasta que cae la respuesta del PAC. La latencia final es una representación del tiempo en el que todos los axones que componen el nervio responden.

Los resultados obtenidos en la *latencia de inicio* de nervios de ratas CM mostraron que prácticamente no existen diferencias significativas entre los grupos para ninguna vez umbral (figuras 18 y 19). Así mismo los valores de *latencia pico* no difieren significativamente entre los grupos para ninguna vez umbral (figuras 20 y 21). Los valores obtenidos en la *latencia final* del PAC de los nervios de ratas CM, CA y CA-Táctil no difieren significativamente (ver figuras 22 y 23). Sin embargo, se puede apreciar la latencia final es ligeramente menor en los nervios de ratas CA que la obtenida en las ratas CM, aunque no difieren significativamente. Lo cual sugiere que el tiempo que tardan todos los haces axónicos en reclutarse en los nervios de los de ratas CM, CA y CA-Táctiles es similar.

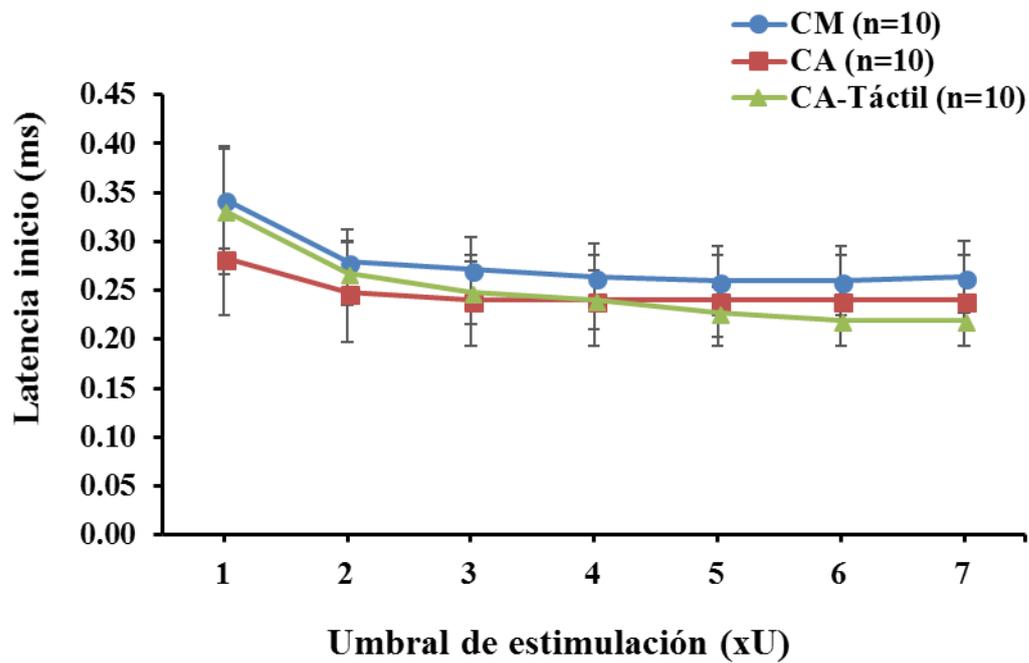


Figura 18. Latencia de inicio del PAC a diferente intensidad umbral registrada en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los valores se expresan en media  $\pm$  E.E.

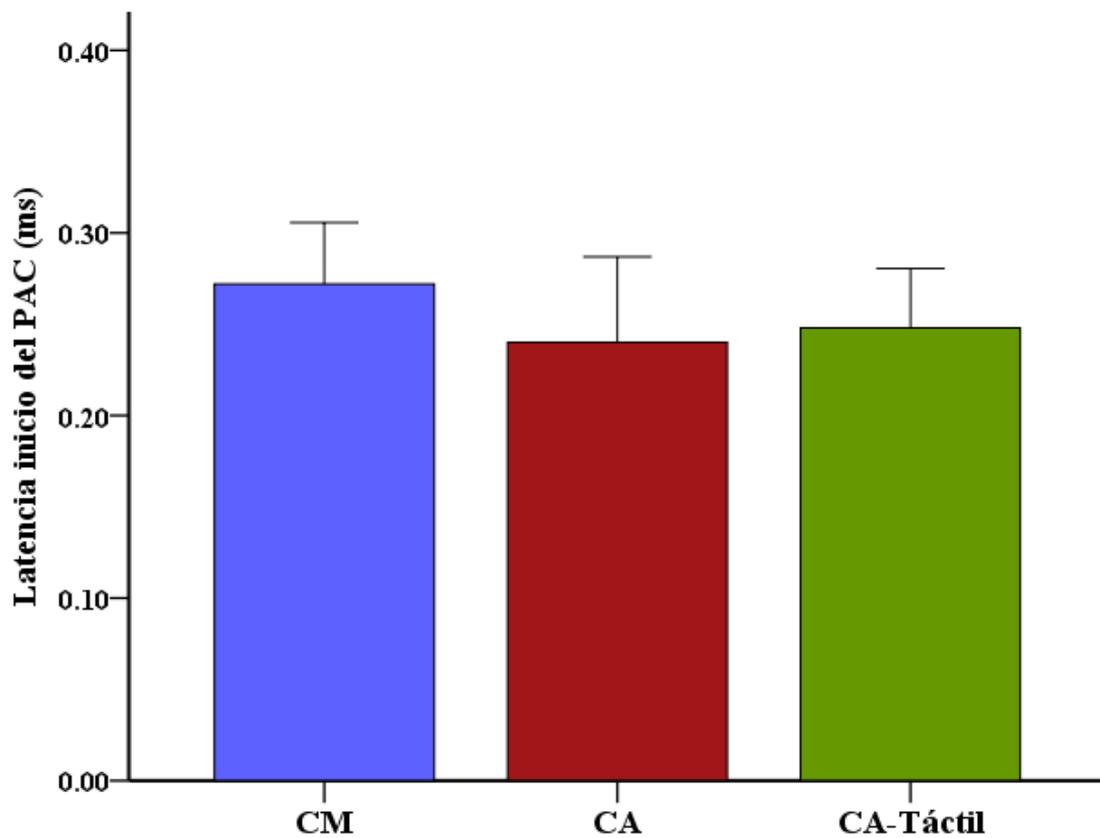
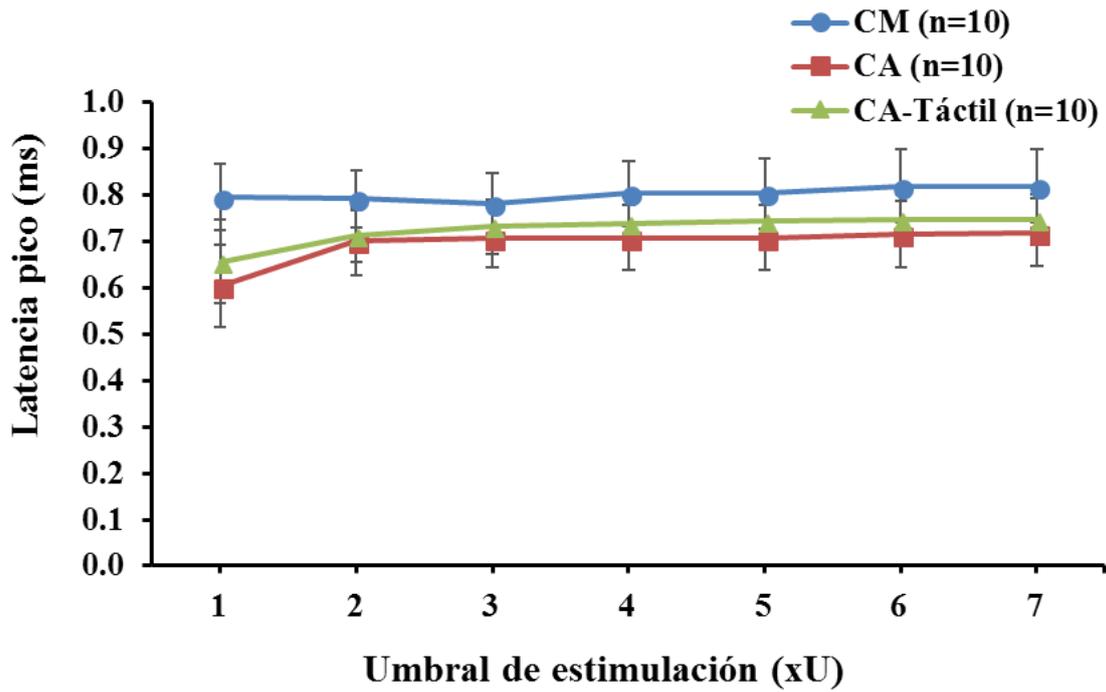


Figura 19. Latencia inicio del PAC a tres veces umbral ( $3xU$ ) registrada en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los valores se expresan en media  $\pm$  E.E.



.Figura 20. Latencia inicio del PAC a diferente intensidad umbral registrada en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los valores se expresan en media  $\pm$  E.E.

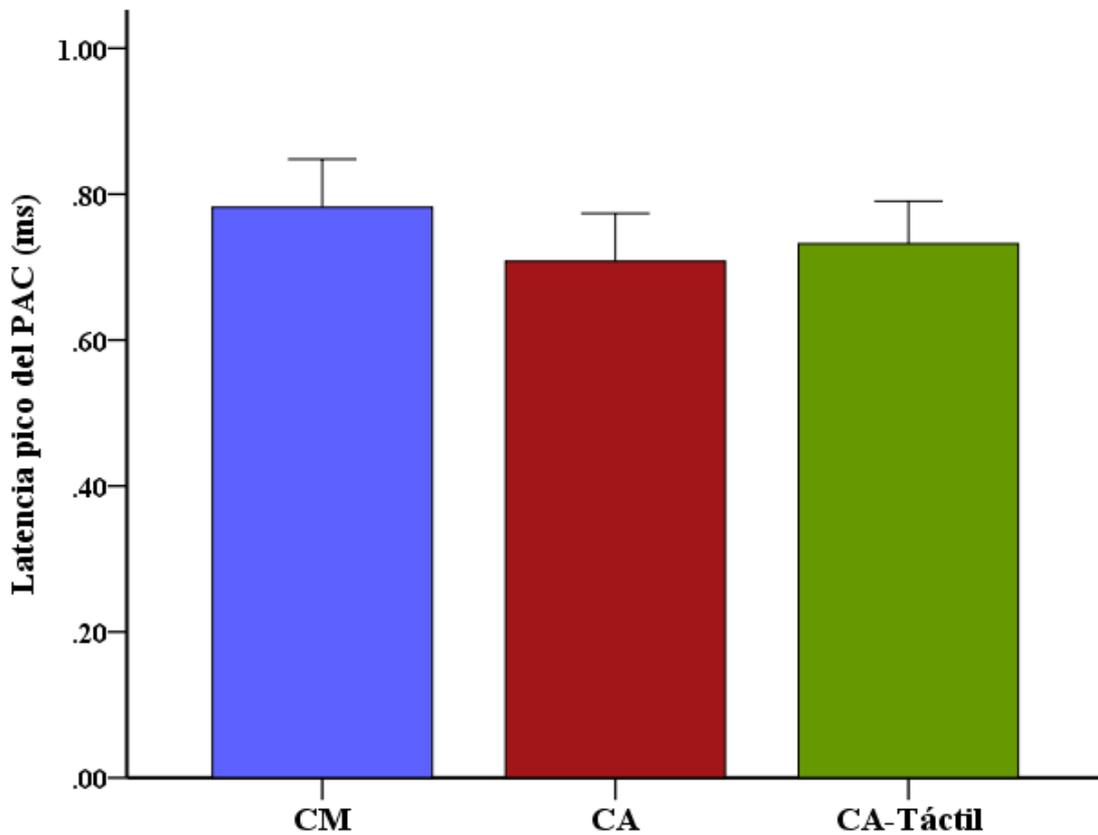


Figura 21. Latencia pico del PAC a tres veces umbral (3xU) registrada en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los valores se expresan en media  $\pm$  E.E.

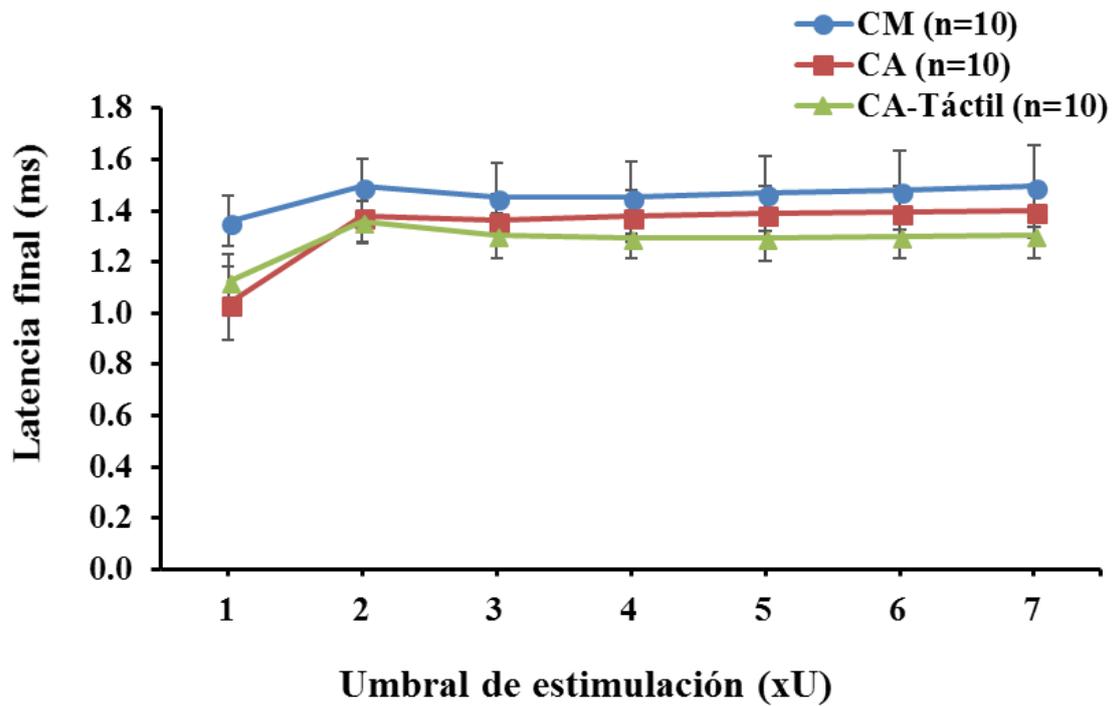


Figura 22. Latencia inicio del PAC a diferente intensidad umbral registrada en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los valores se expresan en media  $\pm$  E.E.

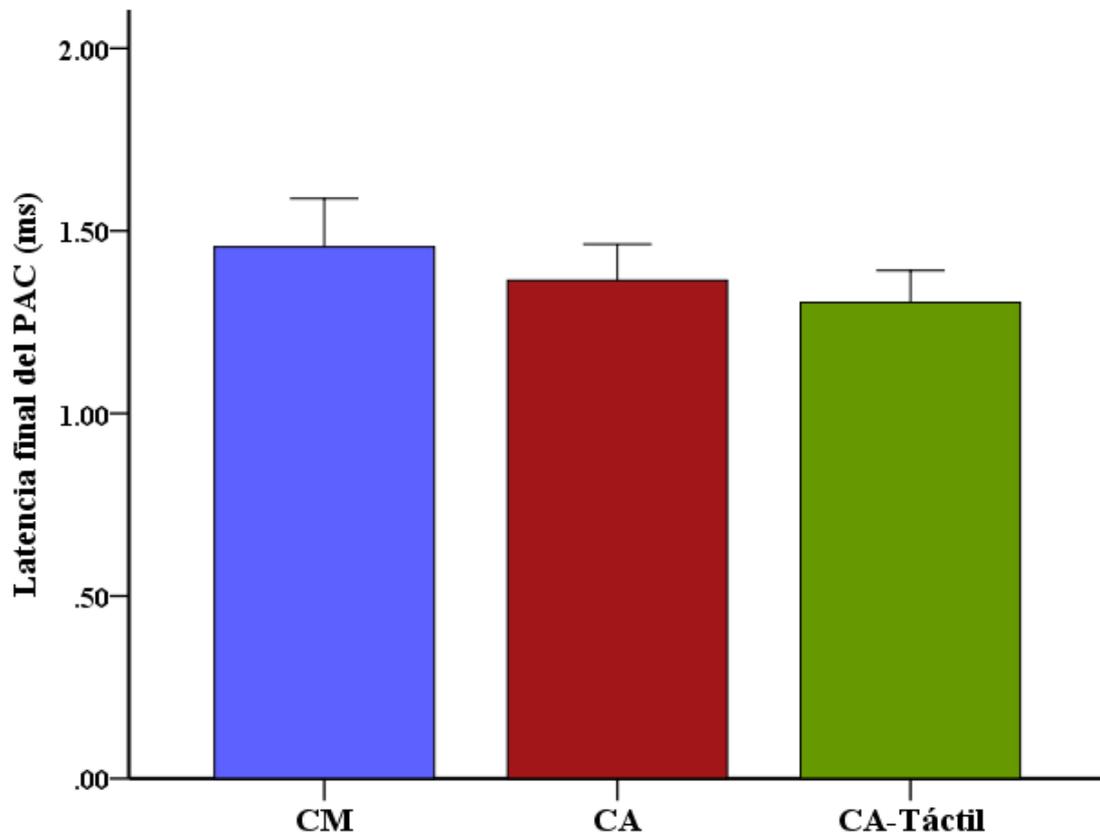


Figura 23. Latencia final del PAC a tres veces umbral (3xU) registrada en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los valores se expresan en media  $\pm$  E.E.

### 7.2.4 Velocidad de conducción máxima y velocidad de conducción promedio del potencial de acción compuesto

La velocidad de conducción de un nervio está en función de las características histológicas de los axones, es decir, la velocidad de conducción depende en gran medida del diámetro de los axones, la cantidad de mielina en los axones y la distancia intermodal, esta última estrechamente relacionada con la mielina.

La *velocidad de conducción máxima* representa la activación de las fibras más excitables de mayor diámetro, mielínicas y de conducción rápida. Por otro lado, la *velocidad de conducción promedio* representa la activación de todas las fibras axónicas reclutadas, es decir, tanto aquellas que conducen a gran velocidad como aquellas de menor diámetro y que conducen progresivamente menor, pero de bajo umbral de activación.

En la figura 24 y 25 se puede apreciar la *velocidad de conducción máxima* del PAC registrada en los nervios de ratas CM, CA y CA-Táctiles con diferente intensidad, en los que no se observaron diferencias estadísticamente significativas para ninguna vez umbral. En cuanto a los valores obtenidos en la *velocidad de conducción promedio* no difieren significativamente entre los grupos (figuras 26 y 27).

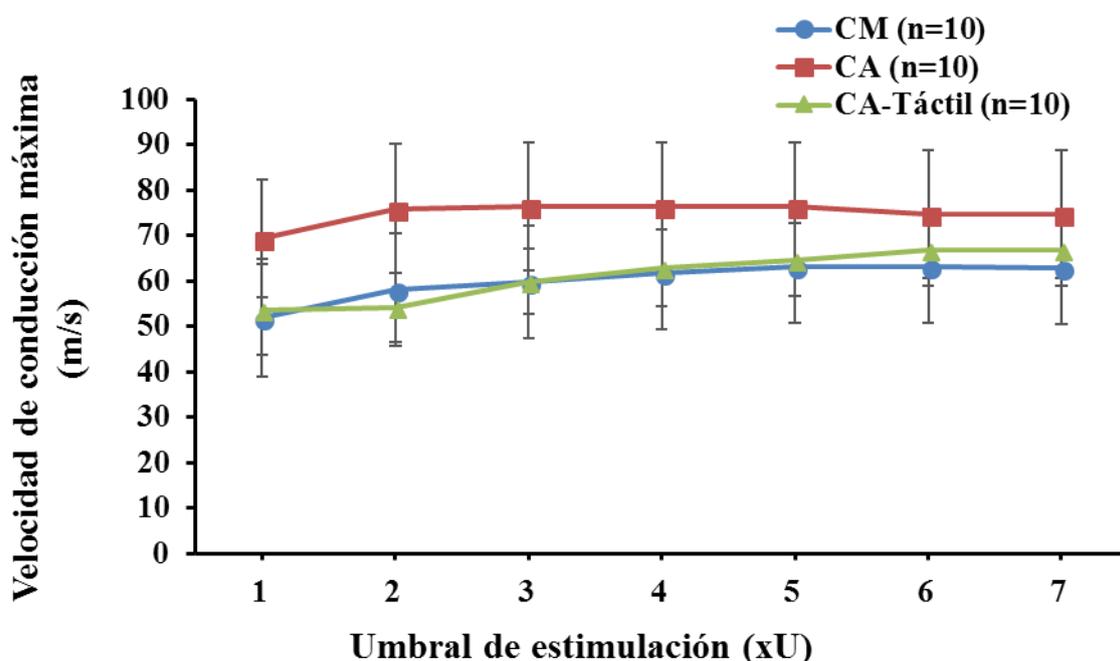


Figura 24. La velocidad de conducción máxima del PAC en el nervio SU a diferente intensidad umbral (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7xU) en ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. Se muestra media  $\pm$  E.E. No se observaron diferencias significativas.

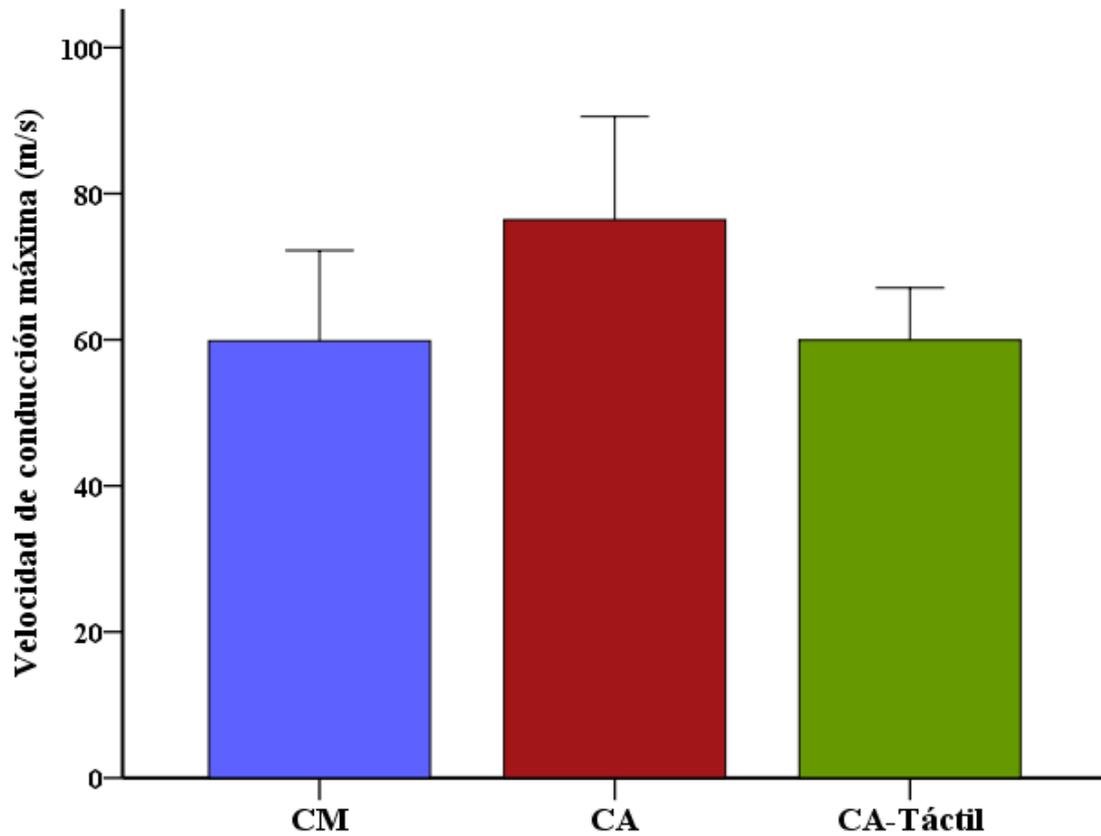


Figura 25. La velocidad de conducción máxima del PAC obtenido en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10 a estímulos de 3xU para cada grupo. Se muestran medias  $\pm$  E.E. No se observaron diferencias significativas.

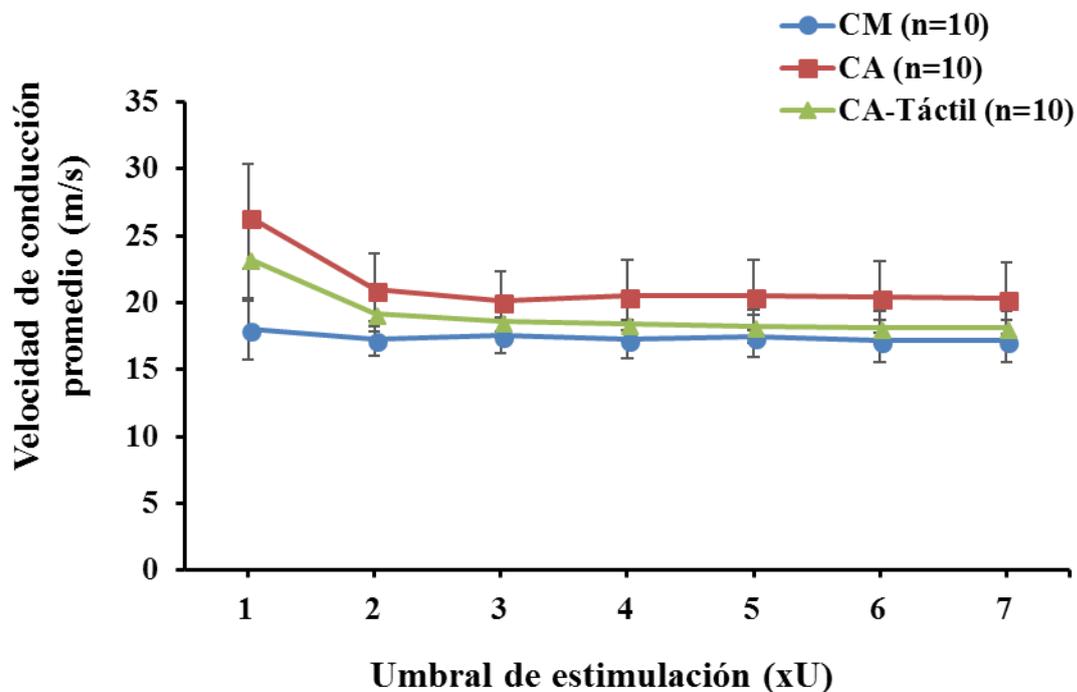


Figura 26. La velocidad de conducción promedio del PAC en el nervio SU a diferente intensidad umbral (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7xU) en ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. Se muestra media  $\pm$  E.E. No se observaron diferencias significativas.

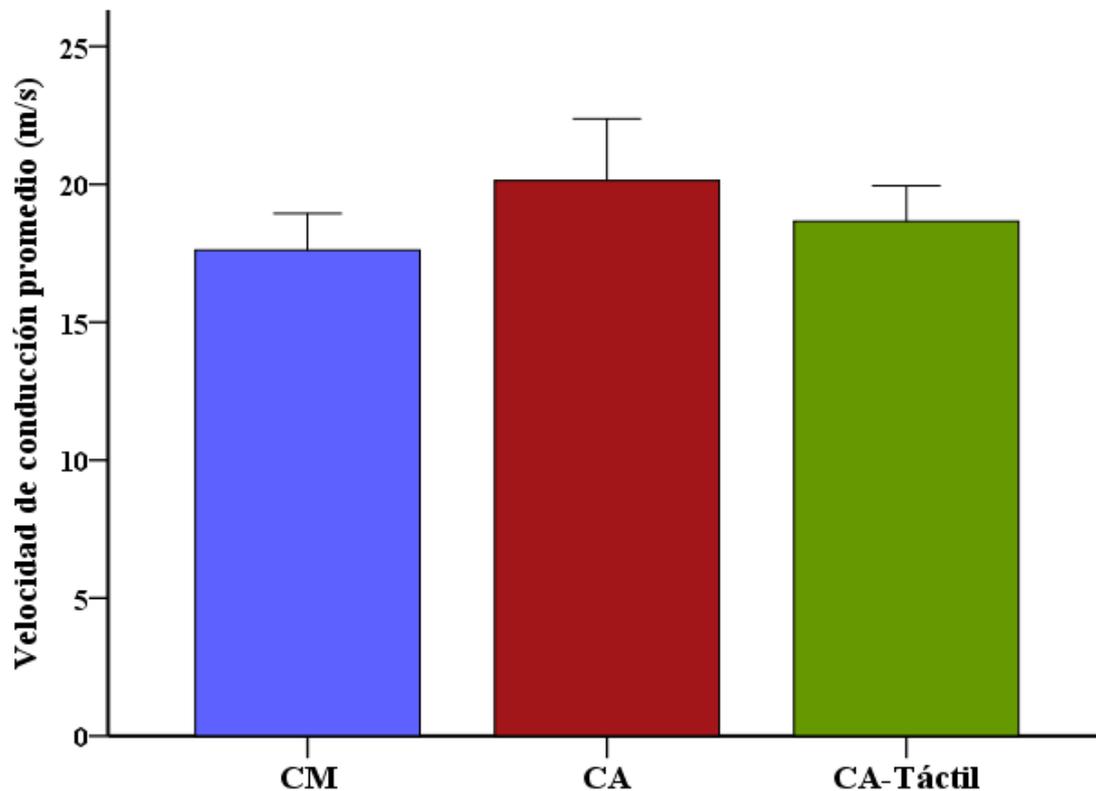


Figura 27. La velocidad de conducción promedio del PAC obtenido en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10 a estímulos de 3xU para cada grupo. Se muestran medias  $\pm$  E.E. No se observaron diferencias significativas.

### **Anchura media y anchura en la base del potencial de acción compuesto**

La *anchura media* del PAC es el intervalo de tiempo a la mitad del PAC. La *anchura en la base* del PAC es el tiempo que tarda en mantenerse la respuesta del PAC. Los resultados obtenidos de la *anchura en la base* del PAC de nervios CM, CA y CA-Táctiles no mostraron cambios significativos en ninguna vez umbral (figura 28). En la figura 29 se observa anchura de 3xU para su mayor apreciación. De la misma manera la *anchura media* del PAC no mostro diferencias significativas en ninguna vez umbral, aunque se observó ligera disminución en los grupos criados artificialmente el cual se puede observar claramente en 3xU (ver figuras 30 y 31).

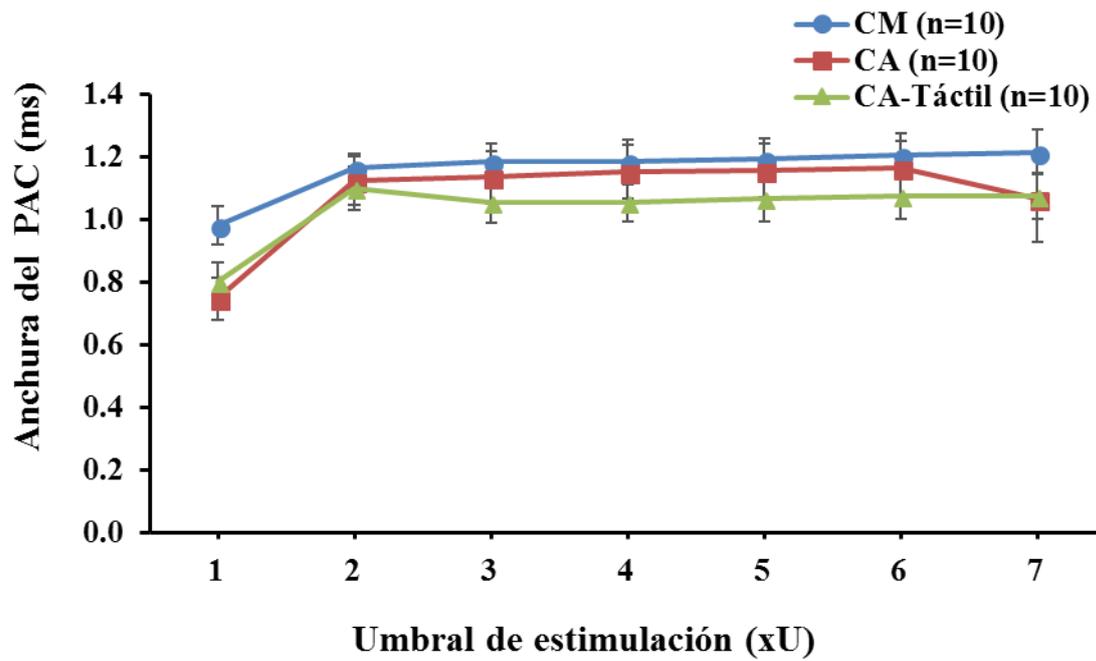


Figura 28. Anchura en la base del PAC en el nervio SU para cada umbral (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7xU) en ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. Se muestra media  $\pm$  E.E. No se observaron diferencias significativas.

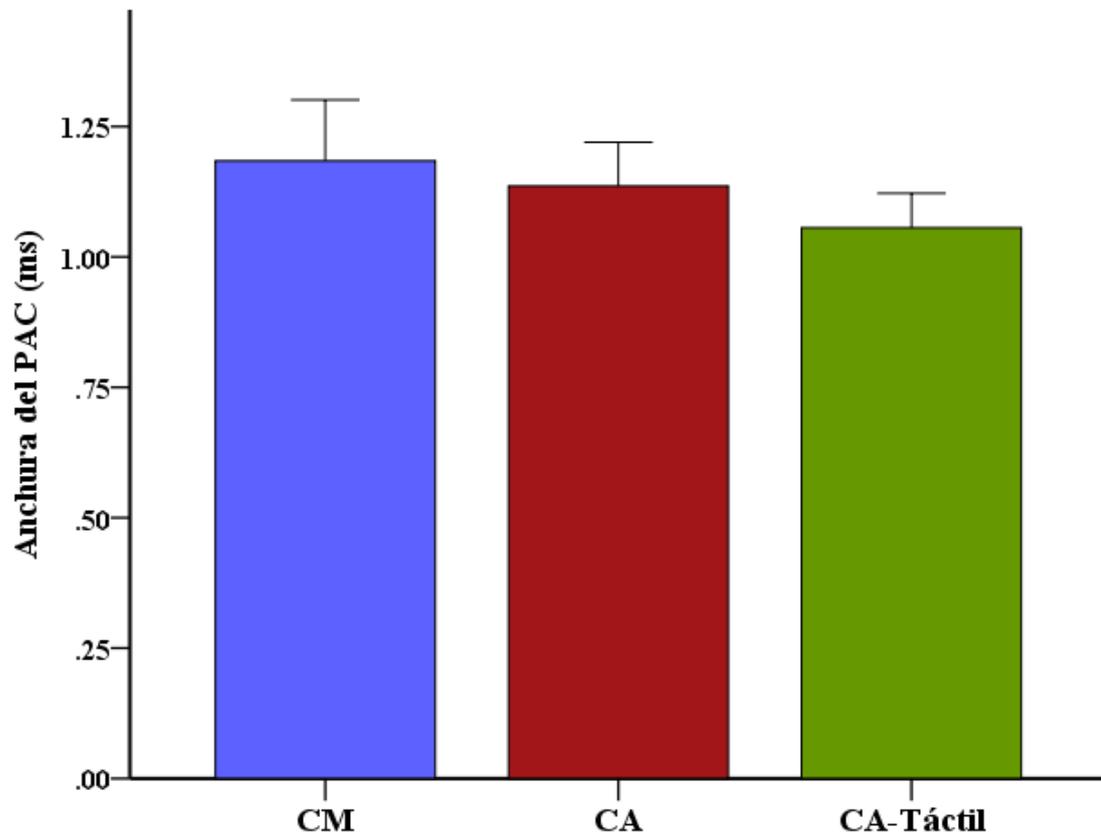


Figura 29. Anchura en la base del PAC en el nervio SU a 3xU en ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10. Se muestra media  $\pm$  E.E. No se observaron diferencias significativas.

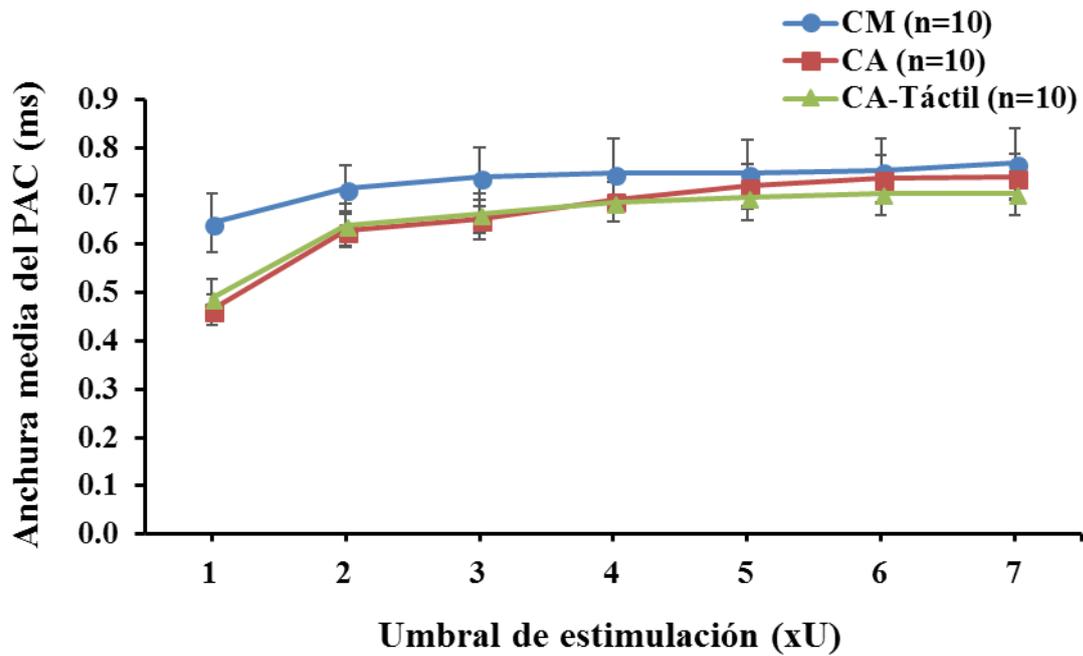


Figura 30. Anchura media del PAC obtenido en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10 a diferente intensidad umbral. Se muestran medias  $\pm$  E.E. No se observaron diferencias significativas.

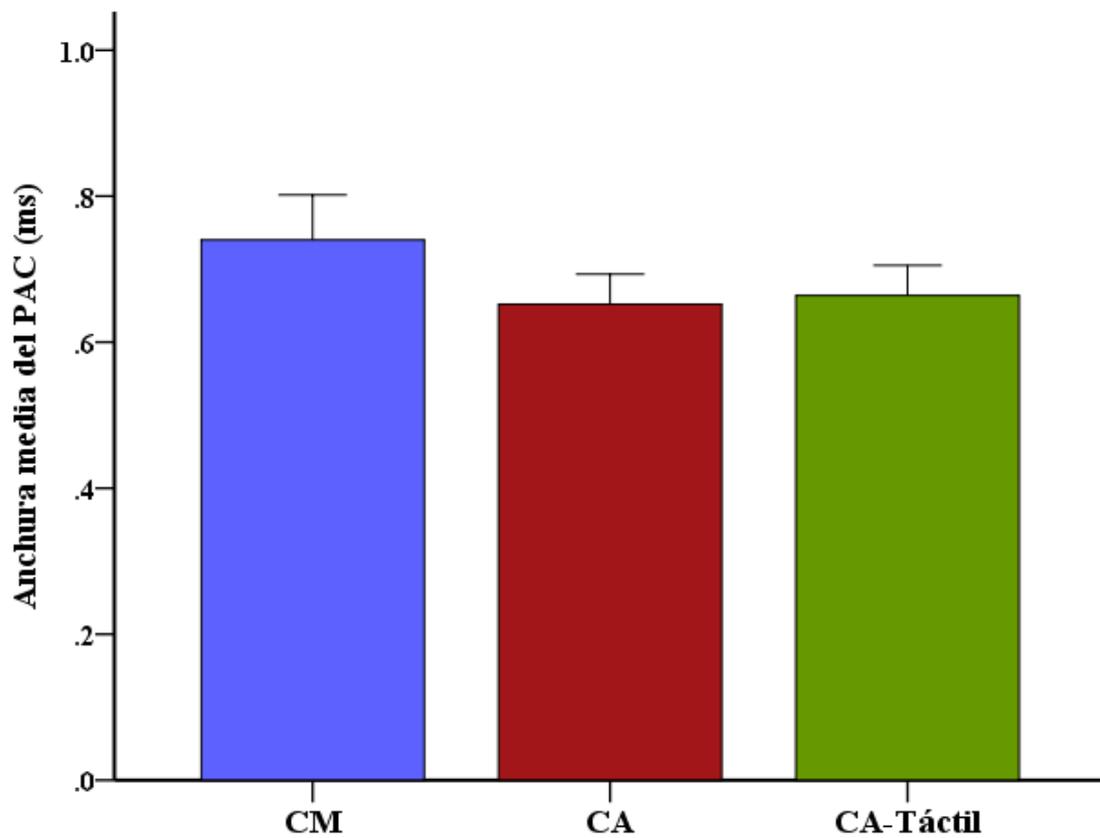


Figura 31. Anchura media del PAC obtenido en el nervio SU de ratas CM; n=10, CA; n=10 y CA-Táctil; n=10 a estímulos de 3xU. Se muestran medias  $\pm$  E.E. No se observaron diferencias significativas.

## 8. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio son la primera evidencia en mostrar el efecto negativo de la experiencia temprana adversa a través de la privación materna y crianza artificial (CA) durante el periodo postnatal pre-destete sobre las características electrofisiológicas del nervio sural (SU) en ratas hembras adultas. Además, corrobora lo previamente encontrado en el nervio SU de la rata macho, es decir, la CA causa reducción en la amplitud y el área del potencial de acción compuesto (PAC) en el nervio SU de la rata macho adulta (Segura y cols., 2014). Además, nuestros resultados muestran que la estimulación táctil que recibieron las ratas durante la CA previene los efectos del aislamiento social temprano.

Los presentes resultados apoyan la hipótesis de que los estímulos sensoriales y/o sociales que provienen del cuidado materno y/o de la interacción entre los hermanos de camada durante el período postnatal pre-destete participan en el desarrollo del sistema nervioso periférico en la rata macho y hembra. Incluso sugieren que los efectos son más drásticos en los machos que en las hembras (Segura y cols., 2014). La observación más notable en este trabajo es la disminución estadísticamente significativa en la amplitud del PAC en nervios de ratas CA en comparación con lo encontrado en nervios de ratas CM. La disminución en la amplitud del PAC es evidente a partir de dos veces umbral ( $2xU$ ) y se mantiene hasta alcanzar la máxima respuesta del PAC, es decir, hasta siete veces umbral ( $7xU$ ). La disminución en la amplitud del PAC puede ser explicada por varias posibilidades: 1) Disminución en la excitabilidad de los axones que componen los nervios de ratas CA (Segura, 2003), esta posibilidad puede ser explicada por el umbral eléctrico de activación. Los resultados obtenidos en el umbral eléctrico de activación no difieren entre grupos, lo cual sugiere que no hay reducción en la excitabilidad de las fibras nerviosas de los nervios de ratas CA al menos en la primera respuesta del PAC. De acuerdo con esto es probable que en el primer umbral ( $1xU$ ) los axones más excitables de los diferentes grupos responden de la misma manera. Sin embargo, conforme se incrementa la intensidad del estímulo, las fibras nerviosas que componen el nervio SU de ratas CA probablemente presentan reducción en su excitabilidad, lo cual podría explicar la disminución en la amplitud del PAC en nervios de ratas CA. Otra posibilidad puede ser la; 2) Reducción en el número de axones activados por un estímulo, es decir, el número de axones activados en el nervio SU de ratas CA podría ser menor que en los nervios de ratas CM. Además, se sabe que el área

del PAC es directamente proporcional al número de axones activados ante un estímulo eléctrico (Poliak y Peles, 2003). Esto sugiere que cierto porcentaje de axones del nervio SU en la rata CA pierde su capacidad para generar y transmitir el PAC. No obstante, una proporción de axones conservan sus propiedades funcionales para generar y propagar el PAC, y responden adecuadamente, quizá por ello no encontramos diferencia entre los grupos en el área del PAC; 3) también es posible que el grosor de mielina y/o el área y diámetro de los axones del nervio SU de la rata hembra CA sea menor que en el nervio de la rata CM o CA-Táctil, como ha sido reportado en la rata macho adulta (Segura y cols., 2014), y en crías de 14 y 21 dpn (Zempoalteca y cols., 2017). Incluso el decremento en la amplitud del PAC podría ocurrir por incremento en el número de axones no mielinizados y decremento en el número de axones mielinizados como lo ha propuesto Li y colaboradores (2015). Para verificar que los efectos de la CA en los nervios SU de la rata hembra se deban a lo antes mencionado, actualmente los nervios SU de los animales involucrados en este trabajo están siendo estudiados desde el punto de vista histológico.

Cabe mencionar que el peso corporal de las ratas CM, CA y CA-Táctil no mostraron diferencias significativas, de este modo se descarta la posibilidad de que el peso corporal pudiera influir en la respuesta del PAC. Así, las alteraciones encontradas en las propiedades electrofisiológicas del nervio SU de ratas CA se debe a la ausencia de estímulos sensoriales táctiles durante la crianza y no se relaciona con su peso corporal.

Los resultados obtenidos en las ratas hembra son consistentes con lo encontrado en el estudio previo realizado por Zempoalteca y colaboradores (2017) en ratas macho de 14, 21 días postnatales, y Segura y colaboradores (2014) en ratas macho adultas criadas bajo el mismo paradigma experimental. Ellos encontraron una disminución en la amplitud y el área del PAC de nervios de ratas CA comparado con la registrada en los nervios de ratas CM. Además, encontraron que dichos efectos se debían a disminución en el grosor de las vainas de mielina, y reducción en el área y el diámetro de los axones, de los nervios SU de ratas CA. De acuerdo con esto se sabe que la disminución en el grosor y compactación de las vainas de mielina está estrechamente relacionada con alteraciones en la propagación del impulso nervioso (Keynes y Aidley, 1985).

La posibilidad de que los efectos encontrados en este trabajo se deban a disminución en el grosor de mielina de los axones del nervio SU es apoyada por los datos encontrados

en el sistema nervioso central por Kikusui y colaboradores (2007), Ono y colaboradores (2008) y Chatterjee y colaboradores (2007) en animales que tuvieron experiencias negativas tempranas. Ellos han encontrado que el destete temprano influye de manera significativa sobre la mielinización en el sistema nervioso central. Es decir, se encontró que el destete temprano en el ratón causa disminución en el número de proteínas de la mielina en homogenados de cerebros (Ono y cols., 2008), y disminución en el diámetro de los axones mielinizados en la parte anterior de la amígdala basolateral (Kikusui y cols., 2007). Además, ratas macho que sufrieron CA mostraron disminución en la proteína mielínica s-100 en diversas áreas del sistema límbico como la corteza prefrontal, la amígdala basolateral, el hipocampo ventral, etc. (Chatterjee y cols., 2007). Al considerar que los anteriores datos fueron obtenidos en roedores expuestos a experiencias adversas durante el período postnatal pre-destete sugieren que este período es importante para el desarrollo tanto del sistema nervioso central como del sistema nervioso periférico. Esta hipótesis es apoyada por lo siguiente, en la rata el proceso de mielinización periférica tiene su pico máximo en los primeros 10 días postnatales y declina a los 20-30 días postnatales (Friede y Samorajski 1968; Mirsky y Jessen 1996). En este caso es probable que la privación de los estímulos táctiles y/o sociales provenientes del cuidado materno, y de los hermanos de camada, por efecto de la CA modifique la formación de mielina de las células de Schwann de los axones del nervio SU, lo cual se ve reflejado en la disminución de la amplitud y el área del PAC en ratas hembra CA. Esta posibilidad es sustentada por estudios realizados por nuestro grupo de trabajo en el que se ha mostrado que la interacción de las crías con la madre durante los primeros 14 y 21 días contribuyen de manera importante en el desarrollo funcional y morfológico del sistema nervioso periférico, específicamente el nervio SU (Segura y cols., 2014; Zempoalteca y cols., 2017).

Respecto a modificaciones en la mielina, hay evidencia que muestra que la inapropiada mielinización induce alteraciones en las propiedades de conducción de los axones. Específicamente, se ha encontrado que la desmielinización o pérdida parcial de células de Schwann influye en los mecanismos por el cual las células gliales regulan la organización molecular de la región paranodal de los axones, región que juega un papel clave en la distribución espacial de canales de potasio (Kv1.1 y Kv1.2; Vabnick y Shrage, 1998; Roncagliolo y cols., 2006). También es posible que exista distribución y expresión anormal de canales de sodio dependientes de voltaje en los nodos de Ranvier,

esenciales para la generación y transmisión del potencial de acción (Poliak y Peles, 2003). Además, se sabe que la exposición de canales de potasio dependientes de voltaje en la región juxtapanodal, (región adyacente al paranodo) como consecuencia de la descompactación de mielina puede contribuir a la reducción en la excitabilidad de los axones (Roncagliolo y cols., 2006). Así, es posible que la disminución en la amplitud y el área del PAC evocada en nervios de ratas CA se deba a cambios en la mielina, los cuales ocasionan alteraciones en la organización de canales iónicos y en consecuencia la reducción en la excitabilidad de la membrana axonal.

Por otro lado, para evaluar de manera específica la participación de los estímulos sensoriales táctiles provenientes de la madre se decidió en un tercer grupo proveer a las crías de estímulos táctiles durante la crianza simulando los lamidos de la madre (CA-Táctil). Los resultados obtenidos en la amplitud y el área (en 2xU hasta 7xU) del PAC en el nervio SU de ratas hembras CA-Táctil son similares a lo encontrado en los nervios de ratas CM. En cambio, la amplitud (en 2xU hasta 7xU) y el área (sólo en el 2xU) del PAC de nervios de ratas CA es significativamente menor en comparación con lo registrado en los nervios de las ratas CA-Táctiles. Estos resultados confirman la hipótesis de que los estímulos provenientes de la madre y hermanos de camada o durante la crianza artificial en el periodo postnatal pre-destete influye de manera positiva sobre las propiedades funcionales del nervio SU (Zempoalteca y cols., 2017). Esto último concuerda con lo encontrado recientemente en este laboratorio donde las ratas CA en convivencia con dos congéneres de la misma edad (CA-Social) en ratas macho adulta (Segura y cols., 2014) y crías machos de 14 y 21 días de edad (Zempoalteca y cols., 2017) no mostraron alteraciones tanto en las propiedades electrofisiológicas del PAC como en las propiedades morfológicas de los nervios.

Asimismo, los presentes resultados confirman que el modelo de separación materna y crianza artificial es confiable, porque la respuesta funcional de los nervios de ratas que sufrieron aislamiento social, pero que se les proporcionó estimulación táctil durante la crianza, fue similar a lo registrado en nervios de ratas que fueron CM, a pesar de haber sido privados de la leche materna y de los estímulos odoríferos del nido. De modo que es importante señalar que el modelo de separación materna y crianza artificial permite evaluar de manera específica la participación de los estímulos provenientes de la madre y hermanos de camada.

Se ha propuesto que los estímulos táctiles que se perciben en la piel de las crías en desarrollo (período postnatal pre-destete) participan de manera importante en el desarrollo de la mielina a nivel central y periférico (datos de nuestro laboratorio) a través de la liberación de factores neurotróficos. Se ha encontrado que las estimulaciones táctiles durante las primeras dos semanas de vida incrementan la concentración de BDNF (Brain derived neurotrophic factors, por sus siglas en inglés) en el hipocampo (Antoniazzi y cols., 2017), e incrementan IGF-1 en la corteza prefrontal (Guzzetta y cols., 2009). También se ha encontrado que la estimulación táctil incrementa la densidad de oligodendrocitos en el nervio óptico (Horiqini-Barbosa y Lachat, 2016).

Además, la aplicación de dichas estimulaciones durante la CA previene la disminución de la proteína s-100 en el sistema límbico de ratas macho (Chatterjee y cols., 2007). Esta hipótesis también ha sido apoyada por la propuesta de la activación neural sobre la mielinización. Es decir, se ha encontrado que la activación neural favorece la proliferación y diferenciación de las células premielínicas gliales a través de la liberación de ATP (adenosin triposfato), AMPc (adenosin monofosfato ciclico), Ca<sup>2+</sup> (calcio), MAPK, BDNF y neuroregulinas (Fields y cols., 1997; Stevens y cols., 2002; Ishibashi y cols., 2006; Kim y cols., 2011).

Por otra parte, los datos obtenidos de latencia inicio, latencia pico y latencia final no difieren entre los grupos (CM, CA y CA-Táctil). Estos resultados sugieren que el tiempo que tardan en activarse tanto las fibras más excitables, como el intervalo de tiempo para alcanzar el pico máximo del PAC y tiempo hasta que cae la respuesta de este, en fibras del componente A, no es modificado por el tipo de crianza.

Respecto a la velocidad de conducción máxima y la velocidad de conducción promedio registrada en el nervio SU, las cuales dependen de características morfológicas de los axones como grosor y grado de compactación de mielina, diámetro y longitud internodal de los axones, no mostraron diferencias significativas entre condiciones. Estos resultados también son similares a los encontrados en ratas macho por Segura y colaboradores (2014) y Zempoalteca y colaboradores (2017).

En cuanto a la anchura media y anchura a la base del PAC la cual se refiere al tiempo que tarda en mantenerse la respuesta del PAC no revelan diferencias significativas entre grupos. Estos datos también coinciden con lo encontrado en la anchura media del PAC

en los nervios de machos adultos donde no revelan diferencias en este parámetro (Segura y cols.,2014). De acuerdo con estas evidencias encontradas en latencia, velocidad de conducción y anchura se sugiere que la proporción de axones que responden a la estimulación eléctrica de diferente intensidad, en los nervios de ratas CA mantienen inalteradas sus características funcionales y morfológicas por lo que conducen adecuadamente el potencial de acción, ya que tanto las latencias como velocidad de conducción y anchura del PAC es similar entre los grupos (Segura, 2003).

Por otro lado, es importante señalar que nuestros resultados muestran que la amplitud y el área del PAC en nervios de ratas CA es afectada en 31.5 % y 36.7 %, respectivamente, mientras que en machos afecta hasta 84.6 % la amplitud y hasta 83.2 % el área del PAC en nervios de ratas CA (Segura y cols., 2014). Esta evidencia de resultados nos permite sugerir que tanto en machos como en hembras las hormonas sexuales pueden jugar un papel importante en la respuesta del nervio. Es probable que a pesar de haber evaluado las propiedades electrofisiológicas del nervio SU en hembras en fase de diestro, las fluctuaciones hormonales durante cada una de las fases del ciclo estral de la rata hembra pudieran influir sobre la respuesta funcional del nervio. Lo que debería de analizarse en otro estudio. Se sabe que los estrógenos tales como el estradiol participan en proliferación y diferenciación de las células de Schwann, además acelera el proceso de remielinización en un modelo de lesión nerviosa periférica (Chen y cols., 2016)

En otros estudios se ha encontrado que la progesterona participa en la diferenciación de oligodendrocitos y promotores de mielinización en el sistema nervioso central (Chesik y De Kesyer, 2010). Además, en el sistema nervioso periférico (en nervio ciático) la progesterona promueve la mielinización (Mecier y cols., 2001). Se ha encontrado que la progesterona y sus derivados estimula la expresión de dos importantes proteínas de mielina en nervios periféricos, la glicoproteína P0 y la proteína de mielina periférica PMP22, proteínas que mantienen la compactación de la estructura de mielina (Melcangi y cols., 2005; Roglio y cols., 2008). Sin embargo, poco se sabe de los mecanismos moleculares por los cuales las hormonas exhiben estos efectos y su papel sobre la función del sistema nervioso periférico.

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten establecer que los estímulos sensoriales provenientes de la madre y hermanos durante el periodo postnatal

predestete, juegan un papel clave en el desarrollo funcional adecuado del sistema nervioso periférico, específicamente el nervio SU. En contraste cualquier alteración en la interacción madre-crías influye de forma negativa en el desarrollo normal del nervio SU.

## 9. CONCLUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran que, en la rata hembra adulta la privación materna y crianza artificial modifica el desarrollo funcional del nervio SU. Es decir, el aislamiento social temprano que consiste en la privación total de estímulos sensoriales y/o sociales provenientes de la madre y hermanos de camada durante el periodo postnatal predestete, reduce significativamente la amplitud y el área (únicamente  $2xU$ ) del PAC del nervio SU pero no modifica la latencia inicio, latencia pico, latencia final, velocidad de conducción máxima, velocidad de conducción promedio, anchura basal y anchura media del PAC.

Asimismo, la estimulación táctil durante la crianza previene los efectos negativos en la amplitud y el área del PAC, causados por el aislamiento social temprano. Así, nuestros resultados muestran el importante papel de la estimulación sensorial táctil y/o social proveniente de la madre y hermanos de camada durante el periodo postnatal predestete, sobre el desarrollo funcional adecuado de los nervios SU de las hembras.

## 10. PERSPECTIVAS

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten sugerir que las alteraciones en amplitud y área del PAC de nervios de ratas CA se debe a cambios morfológicos en sus nervios, por ello es necesario realizar estudios histológicos para corroborar las alteraciones funcionales con la morfología de dichos nervios.

Asimismo, es importante recordar que a pesar de que los registros electrofisiológicos *in vitro* se realizaron durante la fase de diestro (donde las concentraciones hormonales son basales) para todos los grupos, es conveniente evaluar las características electrofisiológicas del PAC en el nervio SU en las diferentes fases del ciclo estral de ratas intactas y ovariectomizadas, y posteriormente en animales criados bajo el sistema de crianza artificial. Esto debido a que durante el ciclo estral de la rata las fluctuaciones hormonales pudieran tener un efecto sobre la respuesta funcional del nervio.

Por otra parte, podría analizarse mediante otro tipo de estudio la organización y concentración de canales de sodio y potasio en los nodos de Ranvier y paranodos, esto porque se sabe que la densidad y distribución de estos canales está estrechamente relacionado con la excitabilidad de las fibras nerviosas (Roncaglio y cols., 2006). Esto podría explicar la pequeña amplitud y área del PAC en nervios de ratas CA.

Por otro lado, es conveniente realizar estudios de electroneurogramas para determinar el tamaño del campo receptivo y respuesta umbral del nervio SU en de ratas CA y CM.

Todo esto con la finalidad de conocer en detalle los daños que se presentan en los nervios ocasionados por el aislamiento social temprano.

## 11. REFERENCIAS

- Aguilar CE (2015). Efecto del aislamiento socio-materno y papel de los estímulos táctiles durante el periodo postnatal pre-destete sobre la conducta copulatoria y los parámetros seminales de la rata macho. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Akbari EM, Budin R, Parada M y Fleming AS (2008). The effects of early isolation on sexual behavior and c-fos expression in naïve male long-evans rats. *Developmental Psychobiology*. 50: 298-306.
- Anderson GC, Moore E, Hepworth J, Bergman N (2003). Early skin-to-skin contact for mothers and their healthy newborn infants. *Cochrane Database of Systematic*. 3: 3.
- Antoniazzi CT, Metz VG, Roversi K, Freitas DL, Vey LT, Dias VT, Segat HJ, Duarte MM, Burger ME. (2017). Tactile stimulation during different developmental periods modifies hippocampal BDNF and GR, affecting memory and behavior in adult rats. *Hippocampus*. 27: 210-220.
- Boccia ML, Pedersen CA (2001) Brief vs. long maternal separations in infancy: contrasting relationships with adult maternal behavior and lactation levels of aggression and anxiety. *Psychoneuroendocrinology*. 26: 657-672.
- Bovie J y Perl ER (1975). Neural substrates of somatic sensation. In C.C. Hurt, *MTP International review of science, physiology* Vol. 3, 303-411. *Neurophysiology*.
- Brushart TM (2011). Peripheral nerve anatomy and function. In: *Nerve repair*. Oxford University press. New York. pp. 3-26.
- Bystrova K1, Ivanova V, Edhborg M, Matthiesen AS, Ransjö-Arvidson AB, Mukhamedrakhimov R, Uvnäs-Moberg K, Widström AM (2009). Early contact versus separation: effects on mother-infant interaction one year later. *Birth*. 2: 97-109.
- Champagne FA, Francis DD, Mar A y Maney MJ (2003). Variation in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment of development. *Physiology and Behavior*. 79: 359-371.
- Chatterjee D, Chatterjee-Chakraborty M, Rees S, Cauchia J, B. de Medeirosa C y Fleming AS (2007). Maternal isolation alters the expression of neural proteins during development: ‘Stroking’ stimulation reverses these effects. *Brain Research*. 1158: 11-27.

- Chen Y, Guo W, Xu L, Li W, Cheng M, Hu Y, y Xu W (2016).  $17\beta$ -Estradiol promotes Schwann cell proliferation and differentiation, accelerating early remyelination in a mouse peripheral nerve injury model. *BioMed Research International*.
- Chesik D, De Kesyer J (2010). Progesterone and dexamethasone differentially regulate the IGF-system in glial cells. *Neuroscience Lett*. 468: 178-182.
- Cobianchi S, de Cruz J y Navarro X (2014). Assessment of sensory thresholds and nociceptive fiber growth after sciatic nerve injury reveals the differential contribution of collateral reinnervation and nerve regeneration to neuropathic pain. *Experimental Neurology*. 255:1-11.
- Conde A, Diaz JL y Belizan JM (2000). Kangaroo mother care to reduce morbidity and mortality in low birth weight infants. *Cochrane Database of Systematic*. 2:2.
- Elanger J y Gaseer HS (1937). *Electrical sings of nervous activity*. University of Pennsylvania press, 221.
- Fields RD, Eshete F, Stevens B, Itoh K. 1997. Action potential-dependent regulation of gene expression: temporal specificity in  $ca^{2+}$ , cAMP-responsive element binding proteins, and mitogen-activated protein kinase signaling. *Journal of Neuroscience*.17:7252-66.
- Fleming AS, Kraemer GW, Gonzalez A, Lovic V, Ress S y Melo AI (2002). Mothering begets mothering: The transmission of behavior and its neurobiology across generations. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 73: 61-75.
- Friede RL, Samorajski T (1968). Myelin formation in the sciatic nerve of the rat: a quantitative electron microscopic, histochemical and radioautographic study. *Journal of Neuropathology Experimental Neurology* 27:546-570.
- Frigeni B, Cacciavillani M, Ermani M, Briani C, Alberti P, Ferrarese C, Cavaletti G (2012). Neurophysiological examination of dorsal sural nerve. *Muscle and Nerve*. 46: 895-898.
- Gonzalez A y Fleming AS (2002). Artificial rearing causes changes in maternal behavior and c-fos expression in juvenile female rats. *Behavioral Neuroscience*. 116: 999-1013.
- Gonzalez A, Lovic V, Ward GR, Wainwright PE y Fleming AS (2001). Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement

- stimulation on maternal behavior and emotionally in female rats. *Developmental Psychobiology*. 38: 11-32.
- Greene EC (1959). *Anatomy of the rat*. New York: Hafner Publishing CO.
  - Guyton C y Hall E (2001). *Tratado de Fisiología Medica*. 10 Ed. McGraw Hill Interamericana.
  - Guzzetta A, Baldini S, Bancale A, Baroncelli L, Ciucci F, Ghirri P, Putignano E, Sale A, Viegi A, Berardi N, Boldrini A, Cioni G, Maffei L (2009). Massage accelerates brain development and the maturation of visual function. *Journal of Neuroscience* 29:6042-6051.
  - Horiquni-Barbosa E, Lachat JJ. 2016. Tactile stimulation during development alters the neuroanatomical organization of the optic nerve in normal rats. *Exp Brain Research*. 234:1737-1746.
  - Ishibashi T, Dakin KA, Stevens B, Lee PR, Kozlov SV, Stewart CL y Fields RD (2006). Astrocytes promote myelination in response to electrical impulses. *Neuron* 49: 823-832.
  - Jerónimo A, Domínguez CA, Rodrigues OA, Sayuri Ly Sassoli VP (2005). Microscopic anatomy of the sural nerve in the postnatal developing rat: a longitudinal and lateral symmetry study. *Journal of Anatomy*. 206: 93-99.
  - Kandel ER, Schwartz JH y Jessell TM (1997). *Principles of neural science*. Appleton and Lang. Norwalk, Connecticut.
  - Kaneko WM, Riley EP, Ehlers CL (1997). Effects of artificial rearing on electrophysiology and behavior in adult rats. *Depress Anxiety*.46: 279-88.
  - Keynes AM y Aidley DJ (1985). *Nerve and Muscle*. Cambridge University Press. Cambridge. pp. 1-10.
  - Kiernan JA (2000). *Sistema nervioso humano. Un punto de vista anatómico*. 7 Ed. McGraw Hill Interamericana.
  - Kikusui T, Kiyokawa Y y Mori Y (2007). Deprivation of mother-pup interaction by early weaning alters myelin formation in male, but not female, ICR mice. *Brain Research*. 1133: 115-122.
  - Kim IS, Song YM, Cho TH, Pan H, Lee TH, Kim SJ, Hwang SJ. 2011. Biphasic electrical targeting plays a significant role in Schwann cell activation. *Tissue Eng Part A* 17: 1327-1340.

- Lenz KM, Graham MD, Parada M, Fleming AS, Sengelaub DR y Monks DA (2008). Tactile stimulation during artificial rearing influences adult function and morphology in a sexually Dimorphic Neuromuscular System. *Developmental Neurobiology*. 68: 542-557.
- Lévy F, Melo AI, Galef BG, Madden M y Fleming AS (2003). Complete maternal deprivation affects social, but not spatial, learning in adult rats. *Developmental Psychobiology*. 43: 177-191.
- Li J (2015). Molecular regulators of nerve conduction-lessons from inherited neuropathies and rodent genetic models. *Experimental Neurology*. 267:209-218.
- Lloyd DC y Chang HT (1948). Afferent fibers in muscle nerve. *Journal of Neurophysiology*. 11: 199-208.
- Lomanowska AM y Melo AI (2016). Deconstructing the function if maternal stimulation in offspring development: Insights the artificial rearing model in rats. *Hormones and Behavior*. 77: 224-236.
- Lovic V y Fleming AS (2004). Artificial-rearing female rats show reduced prepulse inhibition and deficits in the attentional set shifting task-reversal of effects with maternal like licking stimulation. *Behavior Brain Research*. 148: 209-219.
- Manzo G (1984). Análisis electrofisiológico del nervio sural de la rata wistar (Norvergicus albinus). Tesis para obtener el título de licenciado en ciencias biológicas. Facultad de ciencias biológicas. Universidad Veracruzana.
- Marcus DA (2006). A review of perinatal acute pain: treating perinatal pain to reduce adult chronic pain. *J Headache Pain*. 1: 3-8.
- Mckenna KE, Nadelhaft I (1986). The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *Journal or Comparative Neurology*. 248: 532-549.
- Meaney MJ y Aitken DH (1985). The effects of early postnatal handling on hippocampal gluco-corticoid receptor concentration: temporal parameters. *Developmental Brain Research*. 22: 301-304.
- Medeiros CB, Fleming AS, Johnston CC, Walker CD (2009). Artificial rearing of rat pups reveals the beneficial effects of mother care on neonatal inflammation and adult sensitivity to pain. *Pediatric Research*. 3: 272-7.
- Melcangi RC, Cavarretta TR, Ballabio M, Leonelli E, Schenone E, Azcoitia I, Garcia-Segura LM y Magnaghi V (2005). Peripheral nerves: a target for the action of neuroactive steroids. *Brain Research*. 48: 328—338

- Melo AI (2015). Role of sensory, social and hormonal signals from the mother in the development of offspring. Antonelli MC (Ed.) Perinatal Programming of Neurodevelopment. Springer Business-Media New York. Series; Advances in Neurobiology. 10: 219-248.
- Melo AI, Hernández M y Hoffman K (2009). Maternal and peer contact during the postnatal period participate in the normal development of maternal aggression, maternal behavior, and behavioral response to novelty. Behavioral Brain Research. 201: 14-21.
- Melo AI, Lovic M, Gonzalez A, Madden M, Sinopoli K y Fleming A (2006). Maternal and littermate deprivation disrupts maternal behavior and social-learning of food preference in adulthood: Tactile stimulation, nest odor and social rearing prevent these effects. Developmental Psychobiology 48: 209-219.
- Mercier G, Turque N y Schumacher M (2001). Early activation of transcription factor expression in Schwann cells by progesterone. Molecular Brain Research 97: 137-148.
- Messer M, Thoman EB, Galofre A. Dallmen PR (1969). Artificial feeding of infant rats by continuous infusion. Journal of Nutrition. 98: 404-410.
- Mirsky R y Jessen KR (1996). Schwann cell development, differentiation and myelination. Curr Opin Neurobiol 6:89–96.
- Monroy E, Hernandez-Torres E y Flores G (2010). Maternal separation disrupts dendritic morphology of neurons in prefrontal cortex, hippocampus, and nucleus accumbens in male rat offspring. Journal of Chemical Neuroanatomy. 40: 93-101.
- Moore CL y Power KL (1992a). Variation in maternal care and individual differences in play, exploration, and grooming of variation in maternal care and individual differences in play, exploration, and grooming of juvenile Norway rat offspring. Developmental Psychobiology. 25: 165-82.
- Moore CL, (1984). Maternal contribution to the development of masculine sexual behavior in the laboratory rats. Developmental Psychobiology. 17: 347-356.
- Moore CL, Dou H y Jurasjka JM (1992b). Maternal stimulation affects the number of motor neurons in a sexually dimorphic nucleus of the lumbar spinal cord. Brain Research. 572: 52-56.

- Moore KL y Dalley AF (2002). Anatomía con orientación clínica. 4 Ed. Buenos Aires, Argentina: Panamericana.
- Moreno-Pérez S (2015). Caracterización electrofisiológica del nervio sural en ratas durante el desarrollo postnatal temprano bajo el sistema de crianza artificial. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Nadelhaft I, Mckenna KE (1987). Sexual dimorphism in sympathetic preganglionic neurons of the rat hypogastric nerve. *Journal of Comparative Neurology*. 256: 308-315.
- Neri LO, De Amorim MM, Campos SAR, Sanada LS y Fazan VPS (2015). Hind limb sensory innervation in rats: comparison between sural and saphenous nerve morphometry. *Int. J. Morphol.*, 33: 743-750,
- Nieto JL, Vergara-Amador E y Amador JA (2009). Nervio sural: estudio anatómico y consideraciones clínicas. Universidad del Valle, Facultad de Salud. *Revista Colombiana Médica*. 40: 252-258.
- Ono M, Kikusui T, Sasaki N, Ichikawa M, Mori y Murakami-Murofushi K 2008. Early weaning induces anxiety and precocious myelination in the anterior part of the basolateral amygdala of male Balb/c mice. *Neuroscience*. 156:1103–1110.
- Poliak S y Peles E (2003). The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier. *Nature Reviews Neuroscience*, 4: 468-980.
- Porras Villalobos Mercedes Graciela, Aguirre Benítez Elsa Liliana, Zempoalteca Ramírez R, López García K, Melo Salazar AI, Jiménez Estrada I (2016). Morfometría de los axones en nervios de ratas aisladas socialmente: Efecto de la estimulación táctil. LIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Campeche, Camp. 14 al 18 de agosto.
- Ramirez-Funez G (2015). Determinación de las propiedades electrofisiológicas del nervio sensorial sural en ratas neonatas criadas bajo el sistema de crianza artificial. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Rhees RW, Lephart ED, Eliason D (2001). Effects of maternal separation during early postnatal development on male sexual behavior and female reproductive function. *Behavioral Brain Research* 123:1-10.
- Rogart RB y Ritchie JM (1977). Physiological basis of conduction in myelinated nerve fibers. In *Myelin* (ed). New York, London: Plenum Press.

- Roglio I, Giatti S, Pesaresi M, Bianchi R, Cavaletti G, Lauria G, Garcia-Segurae LM, Melcangi RC (2008). Neuroactive steroids and peripheral neuropathy. *Brain Research*.57: 460-469
- Roncagliolo M, Schlageter C, Leon C, Couve E, Bonansco C y Eguibar JR (2006). Developmental impairment of compound action potential in the optic nerve of myelin mutant taiep rats. *Brain Research*. 1067: 78-84.
- Segura B (2003). Efecto de la desnutrición o la malnutrición perinatal sobre la generación y transmisión del potencial de acción compuesto generados en nervios sensoriales periféricos, durante el desarrollo postnatal de la rata. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. Instituto de Neurobiología UNAM.
- Segura B, Melo AI, Fleming AS, Mendoza-Garrido ME, González del Pliego M, Aguirre-Benítez EL, Hernández-Falcón J, Jiménez I (2014). Early social isolation provokes electrophysiological and structural changes in cutaneous sensory nerves of adult male rats. *Developmental Neurobiology*. 74: 1184-1193.
- Shams S, Pawluski JL, Chatterjee-Chakraborty M, Oatley H, Mastroianni A y Fleming AS (2012). Dendritic morphology in the striatum and hypothalamus differentially exhibits experience-dependent changes in response to maternal care and early social isolation. *Behavioral Brain Research*. 233: 79-89.
- Sternberg WF1, Ridgway CG (2003). Effects of gestational stress and neonatal handling on pain, analgesia, and stress behavior of adult mice. *Physiological Behavioral*. 78(3):375-83.
- Stevens B, Porta S, Haak LL, Gallo V, Fields RD. 2002. Adenosine: a neuronal transmitter promoting myelination in the CNS in response to action potentials. *Neuron* 36:855-868.
- Sutachán JJ, Montoya JV, Ariza J, Baldovino M, Arias M, Robles JD y Hurtado H (2000). Contribución de fibras mielínicas provenientes de los nervios espinales lumbares L4, L5 y L6 al nervio ciático de la rata adulta y sus ramas principales. *Latreia*. 13: 215-220.
- Swett JE, Torigoe Y, Elie VR, Bourassa CM y Miller PG (1991). Sensory neurons of the rat sciatic nerve. *Experimental Neurology*. 1141:82-103.
- Vabnick I y Shrager P (1998). Ion channel redistribution and function during development of the myelinated axon. *The Journal of Neurobiology*. 37: 80-96.

- Walker CD, Xu Z, Rochford J, Johnston CC (2008). Naturally occurring variations in maternal care modulate the effects of repeated neonatal pain on behavioral sensitivity to thermal pain in the adult offspring. *Pain*.140:167-76.
- Waxman SG (1977). Conduction in myelinated, unmyelinated and demyelinated fibers. *Archives in Neurology*. 34, 585-589.
- Waxman SG, Kocsis JD y Black JA (1995). Pathophysiology of demyelinated axons: The Axon: Structure, Function and Pathophysiology. Waxman SG, Kocsis JD, Stys PK (Eds.). Oxford University Press. New York. pp. 438-461.
- Zempoalteca R, Porras MG, Moreno-Pérez S, Ramirez-Funez G, Aguirre-Benítez EL, González Del Pliego M, Mariscal-Tovar S, Mendoza-Garrido ME, Hoffman KL, Jiménez-Estrada I, Melo AI. (2017). Early postnatal development of electrophysiological and histological properties of sensory sural nerves in male rats that were maternally deprived and artificially reared: Role of tactile stimulation. *Developmental Neurobiology*. DOI 10.1002/dneu.22561.