

ISBN: 970-27-0770-6

**ANÁLISIS DE LA CITOARQUITECTURA NEURONAL EN EL HIPOCAMPO Y
AMÍGDALA EN CEREBRO DE CERDO PELÓN MEXICANO
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

*** M.V.Z Tzintli Meraz Medina
Dr. Jacinto Bañuelos Pineda
M en C. Carmen Cecilia Gómez Rodiles
Dr. Salvador Jiménez Vallejo
* MVZ Rachel Sarabia Estrada**

Departamento de Medicina Veterinaria CUCBA

Introducción

Las neuronas poseen habilidad para alterar ciertos aspectos de su estructura morfológica y bioquímica en respuesta a cambios en su ambiente o nivel de actividad. Dicho mecanismo está en estrecha relación con su capacidad de adaptación y sobrevivencia en circunstancias comprometedoras. Los mecanismos implicados son variados y pueden ocurrir de forma aislada o como parte de una respuesta compleja y coordinada (Davies y Morris, 2004). En cerdos, el cerebro ha demostrado plasticidad con alteraciones en la morfología neuronal, con mayor apreciación en el tamaño dendrítico y el tamaño del soma; que refleja las diferentes apreciaciones sensoriales en medios ambientes de crianza distintos (Grandin, 1989). Los ambientes de crianza tienen un significativo efecto en el crecimiento dendrítico y el tamaño del soma en neuronas de cerdos jóvenes (Jarvinen et al., 1998)

En la actualidad existen casi 100 razas porcinas de *Sus domesticus*, de las cuales se obtienen las variedades comerciales que tienen una mezcla genética importante. Este tipo de cerdos generalmente son utilizados en las explotaciones por sus excelentes características productivas y reproductivas (López Morales et al., 1999). Sin embargo, en México existen cerdos cuyo origen proviene de razas antiguas introducidas por los españoles durante la conquista. Estos cerdos fueron del tipo ibérico, céltico y napolitano, que a su vez se mezclaron con cerdos introducidos de origen asiático (*Sus vittatus*), dando origen a diversos grupos: *cerdo nativo de México*, *cerdo pelón mexicano (mexican hairless pig)* *pata de mula (big hof pig o mule foot)* y *casate o cuino*, que en su conjunto se les llama cerdo criollo mestizo mexicano. La característica principal de estos cerdos es un alto nivel de grasa corporal y un bajo desarrollo muscular. Genotípicamente el cerdo criollo mexicano tiene una gran capacidad de adaptación a situaciones de estrés y diferentes condiciones ecológicas, tiene un bajo nivel de mortalidad a comparación de otras razas, su capacidad de reproducción es igual o similar al cerdo comercial, el cual es altamente sensible a situaciones de estrés (López Morales et al., 1999).

Estrés animal.

En animales de granja, tanto las experiencias previas como los factores genéticos, afectan el temperamento e interactúan de maneras complejas para determinar el estrés en estos (Grandin., 1997). Los animales pueden padecer de estrés debido a: restricción en sus movimientos, manejo, novedades; o también padecer de estrés físico por: hambre, sed, fatiga, lesiones, extremos térmicos, entre los principales.

El término de estrés fue utilizado por primera vez por Hans Selye en 1936, para describir aquella situación en que factores medioambientales, agresivos o estresantes que desencadenan una reacción no específica en el individuo con la finalidad de preparar al organismo a enfrentar estímulos variados y heterogéneos que se presentan al interactuar con su medio ambiente, esta reacción está caracterizada por un aumento en la actividad del eje hipotálamo-pituitario-adrenal (Selye, 1956; Dantzer y Mormedel,1980). Así mismo Selye consideró el funcionamiento de las glándulas adrenales como las responsables de la respuesta de estrés, debido a la liberación en la sangre de hormonas esteroides (cortisol o corticoesterona) a través de la corteza adrenal.

Estas hormonas son de naturaleza lipofílica, por lo que presentan una amplia facilidad para cruzar la barrera hemotencéfálica y llegar a amplias zonas del cerebro donde ejercen diversas acciones, fundamentalmente mediante la activación de dos tipos de receptores; receptor mineralocorticoides y receptor glucocorticoides (Sandi et al., 2003).

Las neuronas hipocámpales expresan receptores a esteroides adrenales circulantes (McEwen et al., 1968), por lo que son más susceptibles al daño por estrés (Sapolsky, 1992). Al respecto, estudios han revelado que las situaciones de estrés crónico induce una regresión en el crecimiento de las ramas dendríticas en neuronas piramidales del hipocampo principalmente en la región CA3 del cuerno de Ammon (Watanabe y McEwen,1992, McEwen et al., 1999; Magariños y McEwen, 1997), suprime la neurogenesis de las neuronas granulares del giro dentado, así también causa hipertrofia dendrítica en las neuronas del complejo baso lateral de la amígdala (BLA); las cuales son presumiblemente neuronas de proyección excitatoria (McDonald, 1982, 1992).

La remodelación dendrítica se caracteriza por un acortamiento reversible y una pérdida de ramas dendríticas apicales, mediado por mecanismos que envuelven altos niveles de secreción de glucocorticoides y la activación de secreción de aminoácidos excitatorios (Magariños y McEwen, 1995a y b). Los cambios plásticos que ocurren en las neuronas pueden a su vez ser cambios a largo o a corto plazo, cambios degenerativos o protectores (De Kloet et al., 1999)

En el hipocampo y la amígdala se ha demostrado que diversas condiciones estresantes son capaces de acortar el tamaño de las dendritas, así como de alterar la forma de las espinas dendríticas (Vyas et al., 2002), estos cambios pueden suceder en periodos de 2 a 3 semanas de continuo estrés (Watanabe y McEwen, 1992).

Hipótesis

Existe diferente respuesta en la morfología de las dendritas neuronales del hipocampo y amígdala en cerdos con diferente respuesta a las condiciones de estrés de hacinamiento.

Objetivo General

Caracterizar el desarrollo dendrítico neuronal en el hipocampo y amígdala del cerdo pelón mexicano y del cerdo de crianza comercial bajo condiciones de hacinamiento en explotación semi-intensiva.

Objetivos Particulares

1. Valorar el grado de respuesta al estrés en el cerdo pelón mexicano y cerdo comercial sometidos a estrés de hacinamiento.
2. Reconocer las diferencias en la remodelación dendrítica de neuronas de hipocampo (región CA3) en ambos tipos de cerdos.
3. Reconocer las diferencias en la remodelación dendrítica de neuronas del núcleo baso- lateral de la amígdala en ambos tipos de cerdos.
- 4.

Material y Métodos

El presente estudio se realizara en el laboratorio de Morfofisiología del CUCBA y la Posta Zootécnica de La Cofradía de la Universidad de Guadalajara. Se utilizaran 54 cerdos machos de la raza pelón mexicano y 54 cerdos machos de la crucea Yorkshire-Duroc. Los cerdos serán destetados a los 20 o 25 kg y se alojaran en lechoneras en un número de 20 a 25 lechones sometidos a manejo de producción tipo semi-intensiva). Cuando tengan 60 o 65 kg, los cerdos serán transferidos al área de engorda, donde alojaran en corrales de piso de rejilla de hormigón, cada corral medirá 6m de largo por 5m de ancho, en cada corral se alojarán 25 o 35 cerdos de cada tipo. El alimento y agua serán proporcionado a libre acceso y el manejo general será hecho por una sola persona. Cuando los animales alcancen los 90 kg. de peso (+/- 10 kg.) serán sacrificados bajo condiciones de rastro.

Cuantificación de cortisol

Muestras de sangre serán tomadas cada semana por las mañanas, durante los 32 días previos al sacrificio con el propósito de cuantificar los niveles séricos de cortisol mediante la técnica de ELISA.

Proceso histológico de los cerebros

El cerebro será extraído manualmente e inmediatamente se lavará con solución buffer fosfato al 0.1M pH 7.4, después se colocara en inmersión en solución fijadora de paraformaldehído buffer fosfato 0.4% molar (fijación inicial) durante 24 horas. Posteriormente se disecaran pequeños trozos de tejido correspondientes a CA3 de hipocampo y núcleo baso-lateral de la amígdala para someterlos al procedimiento que señala la técnica de impregnación con plata de Golgi-Cox. Una vez concluida esta técnica se obtendrán cortes de 120 micras de espesor y se montaran en portaobjetos con resina sintética. Esto con el propósito de realizar un análisis con un microscopio de luz que cuenta con un brazo de dibujo y una cámara lucida. Se obtendrán reproducciones manuales de la remodelación dendrítica de 10 neuronas piramidales del hipocampo seleccionadas de cada animal, así como de los procesos dendríticos de neuronas contenidas en el núcleo baso lateral de la amígdala.

Las medidas serán tomadas en los siguientes parámetros:

Área del soma; que corresponderá al área del cuerpo de la célula en los planos X y Y.

Crecimiento total dendrítico.

Densidad de espinas.

Número de puntos de ramas.

Factor Forma. Índice de la relación perímetro/área que expresa la aproximación de la forma nuclear a un círculo.

Análisis de Datos

Los datos obtenidos de la determinación de los niveles de cortisol y de la cuantificación de la morfología neuronal, se analizarán mediante un análisis de varianza y se establecerá un nivel de significancia de $\alpha < 0.5$.

Bibliografía

- Dantzer R. y Mormedel P. 1980. El estrés en la cría intensiva del ganado. *Editorial Acribia*, pp. 15-63.
- Davies W. R, and Morris B. J. 2004. Molecular biology of the neuron. *Molecular and cellular Neurobiology Series*, pp. 356-366, 504.
- De Kloet E.R., Otil M. S. and Joëls M. 1999. Stress and cognition : are corticosteroids good or bad guys ? *Trends Neurosci.* 22: 422-426.
- Grandin T. 1989. Dendritic growth in somatosensory region of brain cortex in pigs residing in a simple or a complex environment. *Dissertation, University of Illinois, Unpublished doctoral dissertation.*
- Grandin T. 1997. Evaluación del estrés durante el manejo y transporte. *Journal of Animal Science*, 75: 249-257.
- Jarvinen M. K., Tesch J. M., McGlone J. J. and Powley T.L. 1998. Effects of diverse developmental environments on neuronal morphology in domestic pigs (*Sus scrofa*). *Developmental Brain Research*, 107: 21-31.
- López Morales R. J., Martínez Gamba R. y Salinas Ramos G. 1999. El cerdo pelón mexicano. Antecedentes y perspectivas. *Ciencia y Cultura Latinoamericana, JGH editores*, pp 3-25, 78.
- Magariños A. M. and McEwen B. S. 1995a. Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: comparison of stressors. *Neuroscience* 69: 83-88.
- Magariños A. M. and McEwen B. S. 1995b. Stress induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: involvement of glucocorticoid secretion and excitatory amino acid receptors. *Neuroscience* 69: 89-98.
- Magarinos A. M. and McEwen B. S. 1997. Stress effects on morphology and function of the hippocampus. *Ann N Y Acad Sci*, 821:271-84.
- McDonald A. J. 1982. Neurons of the lateral and basolateral amygdaloid nuclei: a Golgi study in the rat. *J comp Neurol*, 212: 293-312.
- McDonald A. J. 1992. Cell types and intrinsic connections of the amygdala. *Aggleton JP, ed. New York: Wiley*, pp. 67-96.
- McEwen B. S., Weiss J. M. and Schwartz L. S. 1968. Selective retention of corticosterone by limbic structures in rat brain. *Nature*, 220: 911-97-12.

- Sandi C., Cordero M. I., Venero C. and Kruyt N. D. 2003. Prior exposure to a single stress session facilitates subsequent contextual fear conditioning in rats. Evidence for a role of corticosterone. *Horm Behav*, 44(4): 338-45.
- Sapolsky R. 1992. Stress, the aging brain and the mechanisms of neuron death. *Cambridge, MA: MIT press*.
- Selye H. 1956. The stress of life. Editorial McGraw Hill, México.
- Vyas A., Mitra R., Shankaranarayana Rao B. S. and Chattarji S. 2002. Chronic Stress Induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and Amygdaloid neurons. *The Journal of Neuroscience*, 22 (15): 6810-6818.
- Watanabe Y., Gould E. and McEwen B. S. 1992. Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res* 588: 341-345.