



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

**Determinación de las propiedades electrofisiológicas
del nervio sensorial sural en ratas neonatas criadas
bajo el sistema de crianza artificial**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

BIÓLOGA

P r e s e n t a

Ramírez Funez Gabriela

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Angel Ismael Melo Salazar



Puebla de Zaragoza, Pue. Agosto, 2015

El presente trabajo de tesis fue realizado bajo la dirección del Doctor Angel Ismael Melo Salazar, del Laboratorio de Neuroendocrinología del Desarrollo del Centro de Investigación en Reproducción Animal (CIRA) CINVESTAV-Universidad Autónoma de Tlaxcala, ubicado en Ixtacuixtla Tlaxcala, en colaboración con el Doctor René Zempoalteca Ramírez, del Laboratorio de Electrofisiología del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta (CTBC) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Autónoma de México), ubicado en Tlaxcala, Tlaxcala.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Doctor Angel Ismael Melo Salazar, por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto de investigación bajo su dirección, por compartirme sus conocimientos, por su persistencia, su paciencia, su confianza y por sus valiosos consejos, fundamentales para mi formación académica y culminación de esta tesis.

Al Doctor René Zeampolteca Ramírez por formar parte de este proyecto de investigación, por haberme brindado su confianza, su apoyo incondicional sobre todo por sus enseñanzas, críticas, sugerencias y su valioso tiempo invertido, en la realización de esta tesis.

A los sinodales el Doctor Arturo Reyes Lazalde y el Doctor Salvador Galicia Isasmendi por aceptar formar parte del jurado y por su valiosa colaboración en la revisión y aprobación de esta tesis.

A mis compañeros del Laboratorio de Electrofisiología del CTBC, M en C. Rhode, Biol. Cecilia, Biol. Omar, Biol. Suelem, Biol. Marisol y Cesar por su apoyo durante los registros, sus comentarios y sugerencias que fueron de importancia en la realización del presente trabajo de tesis, por la convivencia y brindarme su amistad.

A mis compañeros del Laboratorio de Neuroendocrinología del Desarrollo del CIRA, M en C. Carlos, Biol. Mayra y Gabriela por su apoyo durante la Crianza Artificial, por sus valiosos consejos, por su amistad, motivación y compartir conmigo los buenos y malos momentos.

A mis amigos especialmente a Gabriela mi compañera de viaje, por su gentileza y apoyo en todo momento gracias por estar cerca de mi ofreciendo lo mejor que tienes.

Agradezco de manera especial a mi familia que es lo más valioso que tengo, sin ustedes nada de esto sería posible.

¡A todos gracias!



DEDICATORIA

A mi papá Mario Ramírez de Jesus sin el cual habría tenido menos preocupaciones, a ti que ocupas un sitio en mi vida toma en cuenta que aunque el día pueda estar nublado, el Sol ha salido como cada mañana. Está en nosotros cómo vemos el día. No importa lo duro del pasado; siempre puedes empezar otra vez “AHORA” para qué perder energías antes de empezar.

A mi mamá Carmen Funez Blas, por hacer de mí una mejor persona a través de sus enseñanzas, por su amor y apoyo constante, por su coraje y magia infinita, por permitirme soñar y alentarme a continuar, a ti que escondes las historias detrás de tu sonrisa y das todo sin pedir nada.

A mis hermanos Claudia, Mario, Corazón y Belén que a mi lado siempre están, aunque en la mayoría de las veces parece que estuviéramos en una batalla, sin embargo hay momentos en los que la guerra cesa y nos unimos para lograr nuestros objetivos. Gracias por su gracia especial, su calidez e inmenso cariño, por los momentos maravillosos. Por ser mi fortaleza en mis momentos de debilidad pues siempre me han acompañado sin importar el contexto. Espero esto los incite a lograr lo que se propongan.

A mi sobrino con cariño que esto sea en un futuro una motivación para alcanzar sus metas.

A ustedes que me han brindado su apoyo día a día en el transcurso de mi carrera.

Los quiero

“Hay que tener el miedo necesario para asumir el riesgo y el suficiente para que no merme tus fuerzas”

JMO

INDICE

RESUMEN.....	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Conducta Materna.....	3
1.2 Sistema Nervioso.....	4
1.2.1 Potencial de Membrana.....	6
1.2.2 Potencial de Acción.....	6
1.3 Sistema Nervioso Central.....	8
1.4 Sistema Nervioso Periférico.....	8
1.4.1 Características de los Nervios Periféricos.....	10
1.4.2 Propiedades Electrofisiológicas.....	11
1.4.3 Potencial de Acción Compuesto (PAC).....	12
1.4.4 Desarrollo Ontogénico de los Nervios Periféricos.....	14
1.4.5 Mielina: Origen y Función en el Sistema Nervioso Periférico.....	15
1.4.6 Nervio Sural.....	18
1.4.7 Estudios electrofisiológicos en Nervios Periféricos: Nervio Sural.....	21
2. ANTECEDENTES.....	24
2.1 Modelos de Separación Materna.....	24
2.2 Cuidados Maternos Deficientes por Efecto de la Separación Materna: Participación de Estímulos Táctiles.....	24
2.2.1 Efectos Conductuales.....	25
2.2.2 Efectos Cognitivos.....	26
2.2.3 Efectos Neuroanatómicos.....	27
3. JUSTIFICACIÓN.....	32
4. HIPÓTESIS.....	33

5. OBJETIVOS.....	34
5.1 Objetivo general.....	34
5.2 Objetivos particulares.....	34
6. METODOLOGÍA.....	35
6.1 Animales.....	35
6.2 Implante de Catéter y Crianza Artificial.....	35
6.3 Grupos Experimentales.....	37
6.4 Preparación de Leche Artificial.....	38
6.5 Registro del Potencial de Acción Compuesto (PAC) del Nervio Sural... 38	
6.5.1 Disección del Nervio Sural y Estimulación Eléctrica.....	38
6.6 Análisis Estadístico.....	42
7. RESULTADOS.....	43
7.1 Peso Corporal.....	43
7.2 Electrofisiología del Nervio Sural.....	43
7.2.1 Umbral Eléctrico de Activación.....	43
7.2.2 Amplitud y Área del PAC.....	45
7.2.3 Velocidad de Conducción Máxima del PAC.....	51
7.2.4 Duración del PAC.....	53
8. DISCUSIÓN.....	55
9. CONCLUSIONES.....	65
10. BIBLIOGRAFÍA.....	66

RESUMEN

El cuidado materno constituye un factor primordial para el neurodesarrollo normal de la progenie. La ausencia o deficiencia del cuidado materno por situaciones naturales o experimentales como la separación materna y social (SM) durante el periodo postnatal pre-destete produce una serie de cambios fisiológicos, emocionales, cognitivos y conductuales en la progenie. Por ejemplo, ratas que sufrieron SM cuando adultas muestran alteraciones en la expresión de la conducta materna, sexual y agresiva. Los mecanismos involucrados o afectados por la SM son poco claros, sin embargo se conoce que dicha manipulación temprana afecta negativamente el desarrollo del sistema nervioso central (SNC), como a los sistemas dopaminérgicos y serotoninérgicos, así como a la morfología dendrítica de áreas cerebrales involucradas en regular las conductas afectadas. Por otro lado, también se ha reportado que dicha manipulación afecta las propiedades electrofisiológicas de nervios sensoriales como el nervio sensorial sural (SU). Así, recientemente este laboratorio encontró que la amplitud y el área del Potencial de Acción Compuesto (PAC) del nervio SU de la rata macho adulta aislada (CA) es menor que el de las ratas criadas por su madre (CM), y el re-emplazo de estímulos sociales durante el aislamiento previene dicho efecto. Sin embargo se desconoce durante qué parte del período postnatal ocurren dichos cambios, o si el daño sólo se observa en la etapa adulta. Una de las posibilidades es que dichos cambios se observen al destete debido a que es una etapa importante de cambio ambiental en las crías. Otra pregunta importante es conocer si los estímulos táctiles que la madre provee a las crías, y que se ha mostrado afectan el desarrollo del SNC, participan en dicho proceso. Por tal motivo el objetivo del presente trabajo fue determinar las propiedades electrofisiológicas del nervio SU de ratas macho al destete (21 días de edad). Para ello ratas macho de la cepa Wistar a los 4 días de edad fueron separadas del nido e instaladas y criadas dentro de un sistema de crianza artificial hasta el día postnatal 21 (DPN21). Se formaron los siguientes grupos; 1) Aislados (CA), 2) Aislados + 5 estimulaciones táctiles (corporales-anogenitales) diarias con una brocha de cerdas finas, 5 (CA-Táctil), y 3) Criadas por su madre (CM). En el día 21 las crías de los diferentes grupos fueron pesadas,

anestesiadas y se extrajo el nervio SU en su totalidad aproximadamente 1cm, el cual fue preparado para el registro electrofisiológico *in vitro*. Se aplicaron estímulos eléctricos de duración (0.05ms) e intensidad variable (μA) y de frecuencia fija (Hz).

Los resultados obtenidos mostraron que el umbral eléctrico de activación es significativamente mayor en el grupo CA ($p < 0.05$) y CA-Táctil ($p < 0.05$) en comparación con el que presentó el grupo CM. I. e., es necesario aplicar mayor intensidad de corriente en los nervios de ratas experimentales para generar el PAC. Por otra parte la amplitud y el área del PAC registrada en el nervio SU de crías CA fue significativamente menor con respecto al grupo CM siendo más marcadas en el umbral 3 (amplitud $p = 0.002$; área $p = 0.02$; t-student). En cambio la amplitud y el área registrada en nervios de ratas CA-Táctiles fue significativamente mayor que la de los nervios de las crías CA (amplitud $p = 0.02$; área $p = 0.03$; t-student) pero ligeramente menor a los CM (no mostraron diferencias significativas). No obstante la velocidad de conducción máxima y duración del PAC fueron similares entre los grupos. Además la adición de estímulos táctiles durante el periodo postnatal pre-destete previenen los efectos causados por el aislamiento. Estos resultados sugieren que la privación de la estimulación sensorial y/o social durante el periodo postnatal pre-destete incide negativamente sobre las propiedades electrofisiológicas del nervio SU y son evidentes desde el día postnatal 21 (DPN 21).

1. INTRODUCCIÓN

En mamíferos altriciales, la progenie (hijos) nace inmadura, i. e., sin pelo, sordas y ciegas, no pueden regular su temperatura corporal, ni controlar sus esfínteres, ni su coordinación motora. Esto los hace vulnerables al ambiente y requieren del cuidado de su madre (conducta materna), de su padre (conducta paterna) o de cualquier individuo de la misma especie (conducta parental) para sobrevivir y continuar su desarrollo.

A pesar de que las crías ya muestran un amplio desarrollo neural después del nacimiento, necesitan de la experiencia sensorial, hormonal y social durante el período postnatal proveniente de la madre y de la camada para continuar con el desarrollo, maduración y organización de diversos sistemas fisiológicos, cognitivos, emocionales, neuroendocrinos y conductuales (Fleming et al., 2002).

Así, en estas especies la experiencia temprana es mediada, principalmente, por la conducta materna y la interacción entre hermanos (Fleming et al., 2002; Melo et al., 2006; Levy et al., 2003). En efecto, el cuidado materno como la conducta de lamido (caricia en el humano) en rata durante el periodo postnatal, influye a largo plazo en las respuestas ante el estrés, en procesos conductuales y en procesos cognitivos de las crías (Champagne, 2008).

De acuerdo a lo anterior, el periodo postnatal es un periodo crítico de desarrollo donde la exposición a estímulos físicos o biológicos incide en el crecimiento y maduración del individuo (Moore y Power, 1992). Durante este periodo las crías tienen una intensa interacción con su madre, a través de la conducta que ella despliega hacia ellas. La interacción madre-crías afecta un amplio rango de procesos fisiológicos, conductuales, cognitivos y sensoriales de las crías (Hofer, 1994). Durante dicha interacción existe un intercambio de estímulos sensoriales (tacto y olor) y sociales (de las madre y hermanos de camada), y hormonales (de la leche materna), esenciales para el desarrollo de diversos sistemas fisiológicos, sociales y de comportamiento de la progenie.

Por otro lado cuando la interacción madre-crías se altera a través de diversos paradigmas experimentales, como la manipulación materna o la separación materna parcial (SMP) o total (SMT), el desarrollo de los sistemas antes descritos se modifican negativamente. Efectos que persisten hasta la etapa adulta y afectan la integración social de los individuos (Fleming et al., 2001).

Diversos estudios muestran que ratas cuyas madres sufrieron estrés durante la lactancia o que fueron separadas de su madre durante el periodo postnatal (separación maternal o aislamiento social) manifiestan alteraciones conductuales y fisiológicas del sistema que regula el estrés (Fleming et al., 2002), de los procesos de atención (Lovic y Fleming, 2004) y del aprendizaje social (Melo et al., 2006). Además otros estudios muestran que ratas adultas separadas del nido y criadas artificialmente (CA) manifiestan alteraciones en la interacción social con sus con-específicos, son más agresivas, proveen pocos cuidados maternales a su progenie y tienen déficit de atención a estímulos relevantes del entorno, entre otros cambios conductuales (Fleming et al., 2002; Melo et al., 2009). El reemplazamiento de estímulos táctiles (simulando los lamidos que la madre les provee, con una brocha de cerdas finas) durante el aislamiento previenen parcialmente dichos efectos (Melo et al., 2006, 2009). Lo anterior permite inferir que la interacción madre-cría es de gran importancia para el desarrollo posnatal de los sistemas sensoriales de los individuos.

Los datos anteriores muestran que las variaciones ambientales durante la infancia tienen un efecto particularmente profundo a nivel fisiológico, conductual, y morfológico, del cerebro. A pesar de la enorme cantidad de información acerca del fenotipo conductual de animales que sufrieron separación materna total (criados artificialmente) y su efecto en el sistema nervioso central, se conoce muy poco respecto al efecto del aislamiento sobre el sistema nervioso periférico y sus posibles alteraciones sobre las propiedades electrofisiológicas de nervios periféricos. Este supuesto se basa en que personas con alteraciones mentales como esquizofrenia o paranoia, presentan alteraciones en la transmisión de información sensorial, lo cual sugiere que además de que las áreas neurales

encargadas de percibir las señales sensoriales, de interpretarlas y dar una respuesta motora están alteradas, es probable que la transmisión de dicha información sensorial este distorsionada.

Recientemente, este laboratorio ha publicado que el Potencial de Acción Compuesto (PAC) del nervio sensorial Sural (SU) de la rata macho adulta que sufrieron separación materna total a través del sistema de crianza artificial es menor que el de las ratas criadas por su madre, y el re-emplazo de estímulos sociales durante el aislamiento previene dicho efecto (Segura et al., 2014). Sin embargo, se desconoce en qué etapa del periodo postnatal ocurre este proceso y si los estímulos táctiles durante el aislamiento previenen dicho efecto.

1.1 Conducta Materna

La conducta materna (CM) en mamíferos representa el mayor constituyente del ambiente social durante las primeras etapas de la vida. La mayoría de las madres de las distintas especies de mamíferos tienen la capacidad de poder desarrollar un conjunto de respuestas complejas de tipo conductual y emocional hacia sus crías. El incremento de la responsividad hacia las crías depende de la acción de una secuencia de cambios hormonales durante la gestación (estradiol, progesterona) y el parto (prolactina, oxitocina, cortisol), quienes preparan a la madre para responder apropiadamente a las crías (Melo et al., 2009).

En roedores la CM consiste en la expresión de una serie de patrones motores y somatosensoriales desplegados por la madre al final de la gestación, durante el parto y el período postnatal pre-destete (Rosenblatt y Lehrman, 1963), de tal manera que la madre construye el nido, acarrea a las crías hacia el nido, les lame el cuerpo, los genitales y amamanta. Así la progenie obtiene, además de calor, nutrientes y protección, los estímulos sensoriales (estímulos táctiles, auditivos y odoríferos) y sociales necesarios para su desarrollo (Melo, 2015; González-Mariscal y Melo, 2013).

De manera similar, las crías proveen a la madre de estímulos sensoriales; táctiles, succión, odoríferos, visuales y sociales indispensables para el establecimiento y mantenimiento de la CM. Esta interacción permite generar una relación de mutua reciprocidad que participara en la conformación de una comunicación de fundamental importancia para el desarrollo del individuo, tanto en un nivel biológico (maduración del sistema nervioso, inmune, endocrino entre otros) como social (patrones de conductas sociales y emocionales). La CM se puede clasificar de acuerdo a su relación con el parto; CM pre-parto (construcción de nido, aislamiento de la camada) o CM postparto (acarreo de las crías al nido, agrupamiento, lamido a las crías, y amamantamiento, agresión materna), o a su orientación; hacia objetos (construcción del nido, placentofagia) o hacia la progenie (mismas conductas post-parto, excepto agresión materna) (González-Mariscal y Poindron, 2002; Rosenblatt y Lehrman, 1963).

Por consiguiente para que los organismos conserven su integridad anatómica y funcional, es indispensable que éstos vivan en un ambiente enriquecido y reciban estímulos somatosensoriales durante el periodo postnatal temprano por parte de la madre. Estímulos que por medio de órganos de los sentidos son percibidos y transformados en actividad nerviosa, la cual se conduce a centros nerviosos centrales donde se interpretan dicha información y se da respuestas motoras (Petryna y Bavera, 2002). Es por esto que a continuación se da descripción del sistema nervioso.

1.2 Sistema Nervioso

El sistema nervioso tiene como función esencial el asegurar la comunicación y establecer la relación entre las diferentes partes de un organismo, así como entre el organismo y el medio que lo rodea. Todo esto es posible por las células que lo constituyen; células nerviosas (neuronas), oligodendrocitos y las células gliales (glía). Las células gliales proporcionan sostén y nutrición a las neuronas. Las neuronas se caracterizan por ser células excitables, constituyen la principal unidad de señalización del sistema nervioso, son encargadas de generar y conducir impulsos eléctricos y/o químicos, que permiten que los elementos del sistema

nervioso se comuniquen. La neurona tiene regiones bien definidas: el cuerpo celular o soma; es el centro metabólico de la célula contiene el núcleo y organelos necesarios para la integración de información, el cual da origen a dos prolongaciones; las dendritas y el axón. Las dendritas son prolongaciones finamente ramificadas, son el aparato esencial de recepción de señales procedentes de otras neuronas transmiten impulsos desde la periferia hacia el soma, y el axón la principal unidad de conducción de señales a otras neuronas, su longitud es variable desde algunos milímetros hasta un metro. Los axones pueden ser mielinizados o no-mielinizados, en el caso de las fibras mielinizadas están rodeados por oligodendrocitos (en el sistema nervioso central, y las células de Schwann (en el sistema nervioso periférico). Los nodos de Ranvier interrumpen la continuidad de las vainas de mielina. Esta discontinuidad en la vaina de mielina permite una conducción rápida del impulso.

Las neuronas cumplen diversas funciones como son la síntesis de proteínas, el transporte axonal, la generación y conducción del potencial de acción. Las neuronas se clasifican en tres grupos funcionales principales: sensitivas, motoras e interneuronas o neuronas intercalares. Las primeras transmiten información desde la periferia del cuerpo al sistema nervioso con fines de percepción y de coordinación motora. Las segundas transmiten órdenes del encéfalo o la medula espinal a los músculos y las glándulas. Por último las interneuronas o neuronas intercalares constituyen el grupo más numeroso actúan como relevos entre las neuronas sensitivas y las motoras. Estas se dividen en neuronas de transmisión o proyección y locales, las primeras poseen largos axones y transmiten señales a distancias considerables, y las segundas que elaboran la información en el seno de circuitos locales (Kandel et al., 2001).

Desde el punto de vista funcional las neuronas son células excitables y su importancia radica en su capacidad para establecer comunicación con otras neuronas, lo cual indica que puede generar y transmitir potenciales electroquímicos en toda su longitud.

1.2.1 Potencial de Membrana

La capacidad de generar y transmitir potenciales electroquímicos está asociada con las características fisicoquímicas de la membrana de la célula excitable. La característica fisiológica fundamental, consiste en mantener un gradiente eléctrico y químico entre el interior y exterior de la célula (gradiente electroquímico). La diferencia de concentraciones iónicas entre el interior y el exterior de la célula producen el *gradiente químico*. Los principales iones extracelulares son el sodio y el cloro, y los iones intracelulares son el potasio, y los fosfatos orgánicos (grupos PO₄ unidos a un ATP), además de proteínas que poseen aminoácidos con carga negativa. La diferencia de cargas provocada por la distribución asimétrica de los iones entre el interior y el exterior de la célula producen el *gradiente eléctrico* (Zigmond et al., 1999).

1.2.2 Potencial de Acción

Como se mencionó anteriormente, la propiedad que caracteriza a las células excitables es su capacidad de generar y transmitir señales eléctricas mediante el potencial de acción (PA). El PA es una señal eléctrica que puede definirse como un cambio muy rápido en la polaridad de la membrana de células excitables. En función de los cambios de permeabilidad iónica que sufre la membrana durante el potencial de acción, se distinguen varias fases:

a) Fase de reposo: en este periodo la membrana está polarizada y hay una distribución asimétrica de cargas entre el interior y el exterior de la célula, siendo el interior de la misma electronegativo. Dependiendo del tipo neuronal, este puede oscilar entre -55mV y -75mV, b) Fase de despolarización: se caracteriza por que el potencial de membrana cambia a valores positivos, debido a la entrada masiva de sodio al interior de la célula, cuando esto ocurre, se genera un potencial de acción, esta fase finaliza cuando se alcanza un potencial de membrana próximo al potencial de equilibrio para el sodio, éste se conoce como valor máximo de despolarización (+30mV). c) Fase de repolarización: es la fase de vuelta al

potencial de reposo de la membrana. Una vez que se ha alcanzado el valor máximo del potencial de equilibrio para el sodio, los canales de sodio empiezan a inactivarse lentamente y comienzan a abrirse los canales de potasio, así, hay salida de iones potasio al exterior de la célula, restableciéndose así el valor negativo de la membrana en reposo (-70mV), esto es muy cercano al potencial de equilibrio del potasio. d) Fase de hiperpolarización: al final de la fase de repolarización el potencial de membrana de la célula es más negativo que el potencial de membrana en reposo. Esto se produce debido a que los canales de potasio dependientes de voltaje tardan en cerrarse y los canales de sodio se recuperan lentamente de la inactivación. Para restablecer el potencial de membrana en reposo la bomba Na-/K+, se encarga de distribuir los iones a sus valores normales a través de la membrana. (Kandel et al., 1997, 2001; Figura 1).

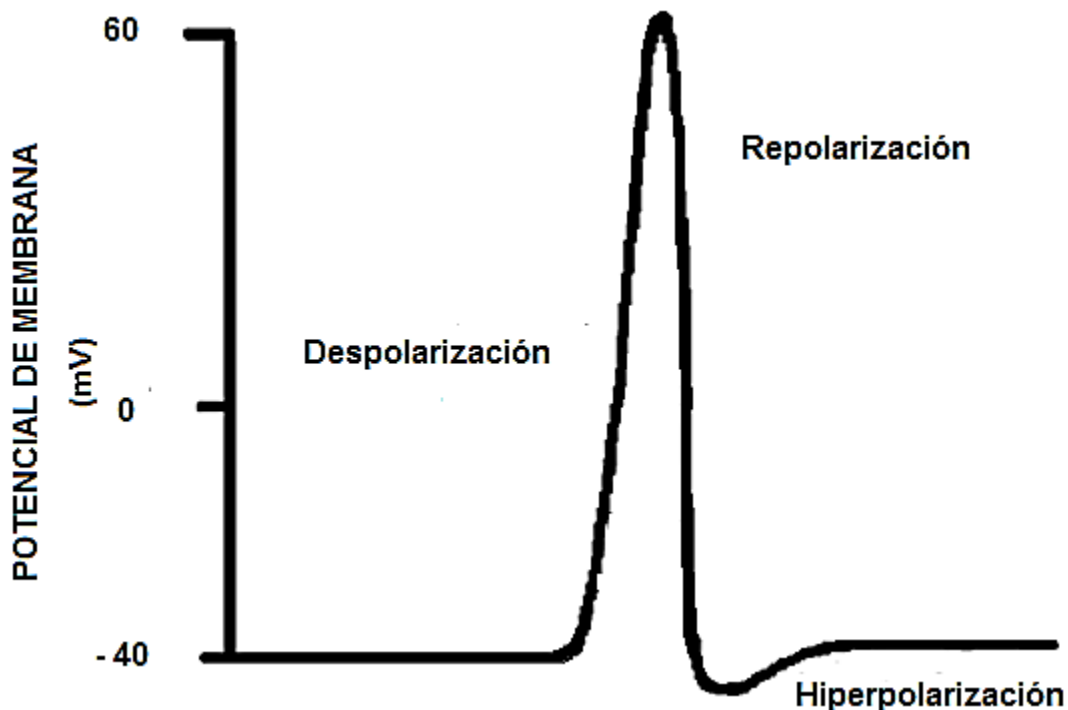


Figura 1. Registro del potencial de acción de una fibra nerviosa, donde se muestran las diferentes fases de un impulso nervioso (Modificado de Kandel et al., 1997).

Teniendo en cuenta aspectos anatómicos, el SN se divide en: Sistema nervioso central y Sistema nervioso periférico.

1.3 Sistema Nervioso Central

Está formado por el encéfalo y medula espinal, integrados por un conjunto de neuronas y células gliales encargadas de recibir estímulos, elaborar y procesar las respuestas efectoras. Ambas estructuras están localizadas en el eje mayor del cuerpo; ocupan la alineación central desde la región cefálica hasta la región sacrocoxígea. El encéfalo está cubierto totalmente por los huesos que constituyen el cráneo y la médula espinal se encuentra en el interior del conducto vertebral, es decir, el sistema nervioso central se halla totalmente protegido por una cubierta ósea, dura, resistente y muy sólida que impide, hasta cierto grado, que los componentes celulares y tisulares de los órganos nerviosos puedan ser dañados fácilmente (Kandel et al., 1997; Geneser, 2000).

1.4 Sistema Nervioso Periférico

El sistema nervioso periférico está constituido por ganglios, nervios periféricos y terminaciones nerviosas. Estructuralmente los **Nervios periféricos** están constituidos por un gran número de axones que forman paquetes de fibras nerviosas, cuya función es comunicar, mediante potenciales de acción (Keynes y Aidley, 1985).

Cada fibra nerviosa está rodeada por una membrana basal que entra en relación directa con el tejido conectivo denominado endoneuro, y éste a su vez, reúne a los axones formando paquetes de fibras nerviosas. Diferentes paquetes de fibras nerviosas son agrupados por el perineuro formando los fascículos nerviosos. El perineuro está constituido por células que se agrupan en láminas densas que mantienen el equilibrio iónico de los fascículos nerviosos. Varios fascículos son reunidos y recubiertos por tejido conectivo llamado epineuro externo que recubre el nervio completamente (Ropper et al., 2005; Brushart, 2011; Figura 2).

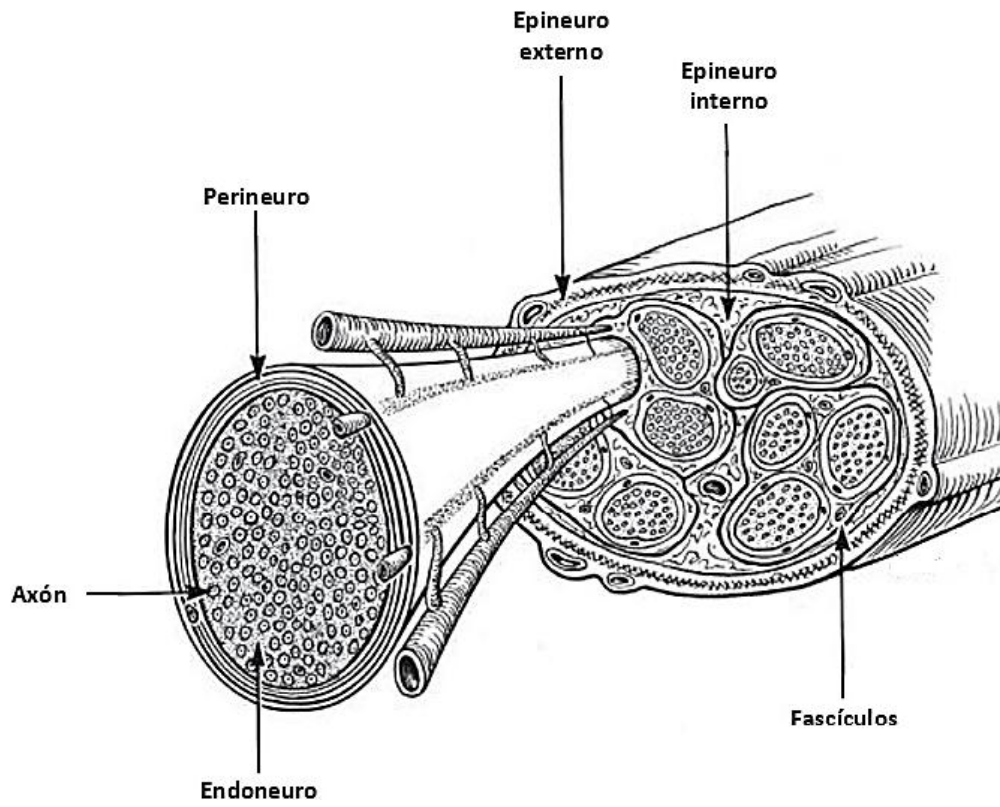


Figura 2. Organización anatómica de nervios periféricos. (Modificado de Brushart, 2011).

1.4.1 Características de los Nervios Periféricos

Los nervios periféricos se han clasificado tomando en cuenta varios criterios, tales como la estructura periférica que inervan, sus características histológicas o sus propiedades funcionales.

Considerando las estructuras que inervan sus axones, los nervios periféricos se han clasificados en:

Nervios cutáneos o sensoriales, cuyos axones (fibras aferentes) provienen de receptores situados en la piel o en las vísceras. **Nervios Musculares o motores**, cuyos axones provienen de receptores situados en los músculos, como los husos musculares (fibras aferentes Ia y II), los órganos tendinosos de Golgi (fibras aferentes Ib), y en receptores profundos (de presión). Los nervios motores contienen también axones eferentes que provienen de neuronas motoras de la médula espinal (Willis y Coggeshall, 1978; Keynes y Aidley, 1985; Kandel et al., 2001; Guyton y Hall, 2001).

Desde el punto de vista histológico, se han clasificado en:

Fibras mielínicas o Fibras amielínicas, de acuerdo a la presencia o ausencia de vainas de mielina, también se ha considerado el diámetro como un parámetro para clasificarlas en gruesas y delgadas respectivamente. Es importante decir también varía en función del origen. A continuación se presenta la clasificación de las fibras nerviosas propuesta por Erlanger y Gasser en 1937.

Fibras del grupo A α , son fibras mielínicas “gruesas”, su diámetro varía de 13 a 20 μm . Este tipo de fibras se encuentra exclusivamente en los nervios motores, la velocidad a la que conducen es de 72-120 ms.

Fibras del grupo A β , son fibras mielínicas su diámetro varía de 6 a 12 μm . Estas fibras provienen de receptores de tacto fino localizados en la piel y de receptores pilosos, la velocidad a la que conducen es de 24-71 ms.

Fibras del grupo A δ , son fibras mielínicas que poseen un diámetro que varía de 1 a 5 μm . Estas fibras inervan la piel y provienen de receptores de temperatura, de

tacto grueso y de presión profunda. También conducen el dolor punzante, y la velocidad a la que conducen es de 6-23 ms.

Fibras del grupo C, son fibras delgadas su diámetro es menor de 1 μm y no presentan mielina, inervan la piel y musculo, conducen sensaciones de dolor, picazón, temperatura y tacto grueso, la velocidad a la que conducen es de 0.5-5ms. Se caracterizan por tener un umbral de activación alto.

1.4.2 Propiedades Electrofisiológicas

Estrechamente relacionadas con sus características histológicas, las fibras nerviosas presentan propiedades funcionales que las distinguen entre sí como:

Umbral eléctrico de activación

Es el valor mínimo de corriente que dispara el potencial de acción en los axones más excitables, el cual varía en relación inversa con el diámetro de los axones, en este sentido las fibras de los grupos $A\alpha$ y $A\beta$ tienen un umbral de activación considerablemente inferior (entre 10 y 20 veces menor) que el de las fibras C.

Velocidad de conducción

La velocidad con la que una fibra nerviosa conduce el impulso nervioso depende de varios parámetros: el *grosor del axón*, debido a que las fibras nerviosas más gruesas presentan menor resistencia al flujo longitudinal de corriente, por lo cual la corriente iónica se desplaza más rápidamente a lo largo de una fibra gruesa que otra de pequeño diámetro. La *presencia o ausencia de mielina*, en las fibras nerviosas mielínicas, la propagación del impulso nervioso se produce a saltos entre los nodos de Ranvier, de tal manera que el potencial de acción se transmite en los axones a mayor velocidad que las amielínicas, debido a que la mielina actúa como un aislante eléctrico que impide la generación del potencial de acción en la membrana axonal, que se encuentra debajo de la región intermodal, siendo los nodos de Ranvier los únicos sitios en donde se puede regenerar el impulso nervioso (Keynes y Aidley, 1985; Segura, 2003).

1.4.3 Potencial de Acción Compuesto (PAC)

Como ya se mencionó numerosos axones constituyen las fibras nerviosas y estas a su vez conforman un nervio, en este sentido la respuesta eléctrica de un nervio, producida por estímulos de intensidad supraumbral, se denomina **potencial de acción compuesto (PAC)**, y es el resultado de la suma de los potenciales de acción generados en cada una de las fibras que constituyen al nervio (Zigmon et al., 1999).

El registro del PAC de un nervio periférico puede presentar uno o dos componentes debido a la presencia de fibras nerviosas con diferente umbral de excitación eléctrica y con distinta velocidad de conducción. Así, en el registro del PAC en un nervio sensitivo se observan dos componentes: **componente A**, resulta de la activación de axones con bajo umbral de excitación y posee una latencia de aparición muy breve. El **componente C**, es provocado por la activación de fibras mielínicas de alto umbral ($A\delta$) o por fibras amielínicas (fibras C), el cual solo se registra cuando el axón es estimulado con pulsos de corriente aproximadamente 10 veces mayor que la requerida para activar las fibras más excitables del primer componente. El componente C presenta una mayor latencia de aparición, como resultado de la velocidad de conducción de las fibras $A\delta$ o C, que es considerablemente menor que la de las fibras A (Gutiérrez, 2000; Segura, 2003; Figura 3).

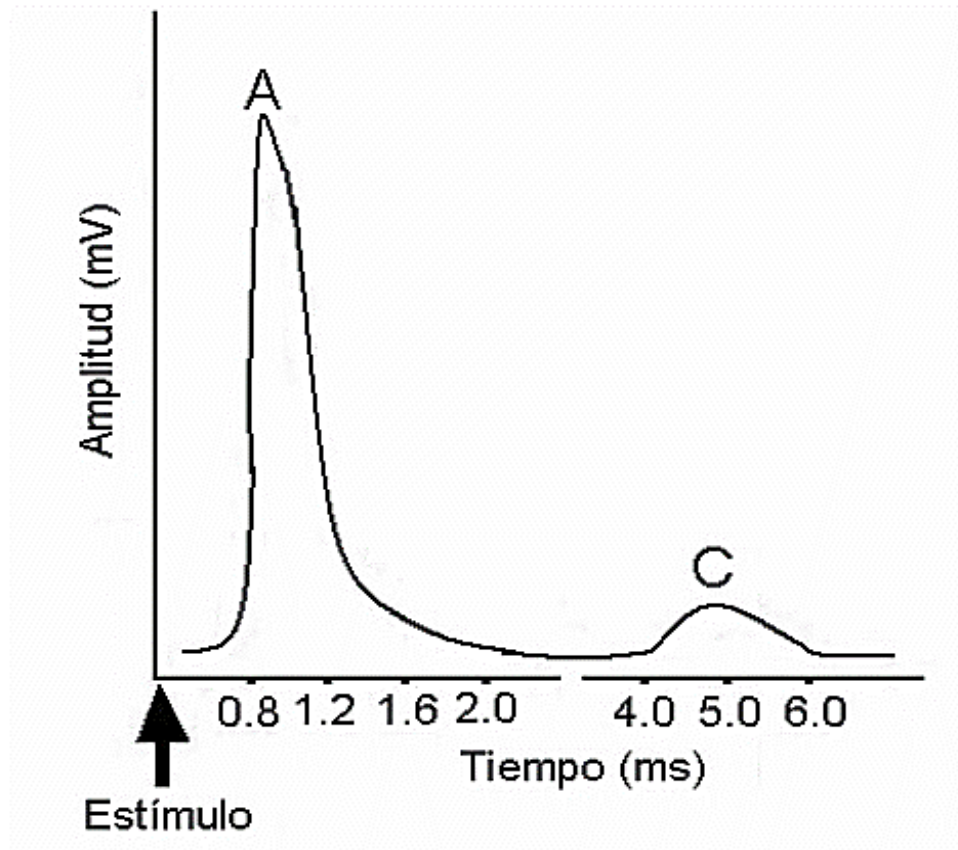


Figura 3. Componentes A y C del potencial de acción compuesto, registrado en el nervio sural de rata (Modificado de Segura, 2003).

1.4.4 Desarrollo Ontogénico de los Nervios Periféricos

La distribución de las especializaciones pre y postsinápticas, que determina la dirección del tráfico de impulsos nerviosos, es una manifestación de la polaridad neuronal. La polaridad se refleja principalmente en la morfología del axón, por ejemplo se ha encontrado que el extremo grueso de los microtúbulos se encuentra orientado hacia la región de crecimiento axonal, mientras que el extremo angosto está en el centro del cuerpo celular (Burton y Paige, 1981; Heideman et al., 1981).

La diferenciación y crecimiento del axón permite establecer contactos sinápticos con blancos adecuados. Esto gracias a moléculas, que estimulan el crecimiento del cono axónico, tales como factores de crecimiento que se transportan por difusión a través del medio extracelular y que forman un gradiente de concentración, con un pico cerca del órgano blanco. Aparentemente el cono axónico posee receptores para esas moléculas, las cuales también poseen la capacidad de modificar la dirección del axón en desarrollo. También se sabe que las células localizadas en la vía de crecimiento del axón e incluso las células blanco, producen factores de crecimiento que interactúan con el cono de crecimiento axónico, acelerando o inhibiendo el alargamiento del axón (Munro y Crick, 1971).

Por otro lado se sabe que durante el desarrollo de nervios periféricos la agrupación de canales y formación de nodos de Ranvier tienen lugar. En el día postnatal 0 (P0) la mayoría de los axones tienen células de Schwann adherentes y los agregados de canales de Na¹ se incrementan simétricamente a lo largo del axón en la primera semana. Este agregado de canales de NA¹ se limita en cada borde de una célula de Schwann y al final de la primera semana, casi todos los sitios de alta densidad de canales de Na¹ tienen características nodales (Vabnick et al., 1996).

1.4.5 Mielina: Origen y Función en el Sistema Nervioso Periférico

Como se mencionó, la velocidad con la que se conduce el impulso nervioso a través de una fibra nerviosa depende de la presencia y ausencia de mielina. El desarrollo de la cubierta de mielina puede ser un proceso largo cuya duración varía de una especie a otra, y dentro de una misma especie en diferentes partes del cerebro. La mielina es un componente único del sistema nervioso, es una membrana multilaminar formada por células gliales que rodea axones, de la integridad de esta dependen el desarrollo estructural y metabólico del axón, su función es maximizar la eficiencia y velocidad de potenciales de acción que se transmiten a través de los axones de las células nerviosas (Siegel et al., 2005)

La composición de mielina difiere en el Sistema nervioso central y periférico, principalmente en la naturaleza de las proteínas que están embebidas en la bicapa lipídica (Chan et al., 2001).

Las células que conforman la mielina de los axones dentro del sistema nervioso central son los oligodendrocitos, mientras en el sistema nervioso periférico son las células de **Schwann**. La formación de mielina periférica es un proceso complejo y dinámico que involucra diferentes tipos de células. Las células de Schwann se originan a partir de la cresta neural, de donde migran hacia los nervios periféricos. Se han descrito diferentes células intermediarias implicadas en la diferenciación de las células de Schwann. Las células precursoras, se encuentran en nervios periféricos de rata en el día embrionario E14 y E15, y en ratón E12 y E13. Las células inmaduras, se presentan en el día E17 en rata y E15 en ratón, estas células inmaduras comienzan a diferenciarse. La proliferación y la migración de estas células esta modulada por los receptores ErbB3 y ErbB2 los cuales reciben señales de las neuroregulinas que secretan moléculas axonales (Carroll et al., 1997; Jessen y Mirsky, 1999). Las últimas células corresponden a la diferenciación de las células de Schwann que se lleva acabo cuando entra en contacto con los axones.

Al nacimiento, los axones de los nervios de los mamíferos altriciales (como la rata), carecen de mielina y durante las primeras semanas de vida postnatal ésta se deposita y se compacta (Mirsky y Jessen, 1999; Corfas et al., 2004).

Durante este proceso las células de Schwann se alinean a lo largo de los nervios periféricos, dejando intervalos que darán lugar a los nodos de Ranvier. A continuación la membrana externa de la célula rodea al axón y forma una estructura de doble membrana, la cual se alarga y forma una espiral alrededor del axón, constituyendo las capas concéntricas típicas de las fibras mielinizadas. Durante este proceso de recubrimiento, el citoplasma de la célula de Schwann es comprimido y desplazado. Las prolongaciones de la célula de Schwann se condensan para formar laminillas que son características de la vaina de mielina madura (Kandel et al., 1997, 2001; Brushart, 2011; Figura 4).

La vaina de mielina no es continua, un axón visto desde su exterior, tiene la forma de un rosario, con engrosamientos que corresponden a las células de Schwann y pequeñas zonas desnudas entre una y otra célula, los nodos de Ranvier, mientras que la región rodeada de mielina se llama internodo. Funcionalmente los nodos de Ranvier constituyen la base de la conducción saltatoria, ya que aquí se localizan los canales de sodio y de potasio que participan en la generación y transmisión del potencial de acción (Guyton y Hall, 2001; Brushart, 2011).

Se ha reportado que mientras mayor sea el grado de compactación de las **lamelas (capas)** de mielina es mayor la velocidad a la que se conduce el impulso nervioso y existe una dependencia directa entre la velocidad de conducción del potencial de acción y la longitud del internodo (Gutierrez et al., 1995). La distancia internodal y el grosor de la vaina de mielina no son aleatorios, sino que se relacionan directamente con el grosor del axón, cuanto más grueso es el axón más gruesa será la vaina de mielina y mayor la distancia internodal (Gal, 2001). La longitud inicial de todos los segmentos internodales en los axones mielinizados es constante (aproximadamente 200µm). Durante el crecimiento, la longitud intermodal incrementa a medida que el nervio se alarga, pero el número de segmentos internodales no se modifica (Friede et al., 1973, 1985).

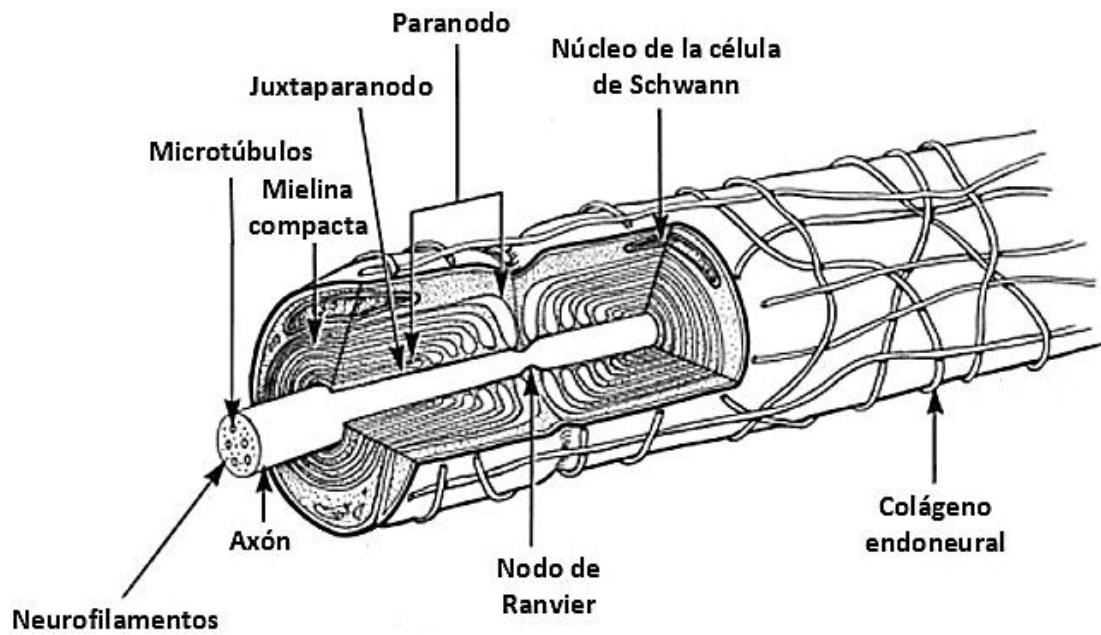


Figura 4. Anatomía de un axón mielinizado. Puede apreciarse un segmento no mielinizado o nodo de Ranvier, las capas de mielina que envuelven al axón, y estructuras que lo componen (Modificado de Brushart, 2011)

1.4.6 Nervio Sural

El nervio sural (SU) desde el punto de vista funcional es considerado puramente sensitivo conformado por fibras aferentes sensoriales mielinicas y amielinicas de origen cutáneo, cuyos axones provienen de receptores situados en la piel (Manzo, 1984; Frigeni et al., 2012).

El nervio SU está constituido por axones de las células del ganglio espinal dorsal que penetran por la raíz dorsal de la medula espinal y por axones de células aberrantes situadas en la raíz ventral. Estas se han descrito como células monopolares, lo que sugieren función de tipo sensorial (Manzo, 1984).

En el humano, 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. El nervio cutáneo sural lateral es rama del nervio peroneo común, y se origina del mismo proximalmente, casi siempre en la fosa poplíteo o antes de rodear la cabeza del peroné, que suministra inervación sensorial al extremo inferior de la pierna y el pie (Nieto et al., 2009).

En la rata, el nervio SU, se origina del peroneo común, a nivel del trocánter mayor de la pelvis, dicho nervio continua en la misma envoltura del nervio tibial y del propio peroneo común hasta el muslo donde la rama lateral del sural se separa. Este continua por el musculo poplíteo, entre los músculos bíceps, femoral y gastronemio lateral, se hace superficial, dando lugar a la rama cutánea que inerva la piel de la parte lateral y posterior del tercio distal de la pierna, y a la rama anastomótica que se une al nervio plantar lateral a través del cual inerva la piel de la porción lateral del quinto dedo de la pata (Greene, 1959; Figura 5).

Su diámetro es variable, se ha reportado que en promedio el diámetro del nervio SU en ratas de 30-90 días de edad es de 259.5-291.0 μ m (Segura et al., 2004). Sin embargo el aumento de peso corporal se asocia con cambios en el diámetro de

fibras mielinicas, esto provoca cambios en la distribución de fibras (Jeronimo et al., 2005).

Se ha reportado que la estimulación eléctrica aplicada en la porción distal del nervio SU, solo registra actividad en la raíz dorsal de la medula espinal a nivel de los segmentos L6 y S1 (Manzo, 1984). En otro estudio encontraron que los nervios espinales L4, L5 y L6 proyectan fibras mielinicas al nervio SU, siendo L5 y L6 las que contribuyen en mayor porcentaje, aunque su aporte es variable a lo largo del tronco nervioso (Sutachán et al., 2000).

Por su fácil acceso y debido a que contiene únicamente aferentes sensoriales se utiliza en estudios electrofisiológicos que involucran lesión, regeneración nerviosa, experimentos relacionados con el dolor y con los reflejos cutáneos. Por tal motivo en este trabajo se utilizó el nervio sensorial SU para evaluar la participación de los estímulos sensoriales y/o sociales provenientes de la madre y hermanos de camada sobre sus propiedades electrofisiológicas.



- 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 5. 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).

1.4.7 Estudios Electrofisiológicos en Nervios Periféricos: Nervio Sural

Los estudios realizados en nervios periféricos permiten comprender su neurofisiología así como los posibles factores externos que pueden afectar la integridad y funcionalidad de estos.

Tal es el caso de la desnutrición crónica que induce una inadecuada activación de las neuronas de la medula espinal (Quiroz-Gonzalez et al., 2012). Por otro lado Segura y colaboradores (2001) realizaron un estudio en ratas en desarrollo de la cepa Wistar para evaluar el efecto de las deficiencias alimentarias perinatales en las propiedades funcionales y morfológicas del nervio SU. En este estudio se formaron los siguientes grupos; desnutridos, malnutridos y controles. El grupo de ratas desnutridas fue alimentado con el 50% de la cantidad de alimento que en promedio ingirieron las ratas control, dos semanas antes del apareamiento con el macho, durante el periodo de gestación y de lactancia. Después del destete (21 días de edad) las crías fueron alimentadas con el mismo régimen alimenticio. El grupo de malnutridos se alimentó con pellets (gránulos) de bajo contenido de proteína (6% de caseína, Teklad, Madison, WI) durante el mismo periodo que el grupo de animales desnutridos. El grupo control tuvo acceso libre al alimento y agua (*ad libitum*). El registro electrofisiológico en el nervio SU de rata se realizó a la edad de 8, 16, 25, 30, 60 y 90 días de edad. Se observó que el umbral del PAC fue significativamente mayor en las ratas desnutridas y malnutridas a los 8, 12, 16 y 25 días de edad en comparación con el grupo control pero a los 60 y 90 días de edad el umbral no difirió entre los grupos. Por otro lado la desnutrición y malnutrición provocan una reducción significativa en la amplitud y el área del potencial de acción compuesto (PAC) a los 25, 30, 60 y 90 días de edad (Tabla 1). Estos mismos autores realizaron análisis histológico y registro las propiedades electrofisiológicas en nervios SU de ratas de 30 y 90 días de edad de grupos similares al trabajo anterior. Ellos encontraron una disminución significativa en la amplitud y el área en los grupos experimentales (desnutrido y malnutrido) con respecto al grupo control. Además de una reducción significativa en el grosor de la vaina de mielina axonal y diámetro de los axones en animales desnutridos y

malnutridos con respecto a los controles. Sin embargo, no encontraron alteración alguna en el número de axones, mientras que el área del PAC registrado en los nervios de animales desnutridos mostró mayores fluctuaciones (Mercado, 2004; Segura et al., 2004; Figura 6 y 7).

Tabla 1. Propiedades electrofisiológicas del componente A del PAC generado en nervios de ratas control (C), desnutridas (D) y malnutridas (M) a diferentes edades postnatales. En paréntesis se muestra el número de nervios empleados. Media \pm E.E. ANOVA y Tukey * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (Modificado de Segura et al., 2001).

Edad (días)	Área del PAC ($\mu V ms$)			Umbral del PAC (μA)		
	C	D	M	C	D	M
8	453.5 \pm 192 (8)	358.9 \pm 75.1 (8)	153.9 \pm 25.3 (8)	102.7 \pm 12.9 (8)	228.1 \pm 23.6 (8)***	127.8 \pm 34.3 (8)
12	503.3 \pm 127 (9)	375.9 \pm 80.1 (10)	339.2 \pm 38.6 (9)	26.7 \pm 5.1 (10)	60.5 \pm 9.7 (9)***	46.3 \pm 9.7 (8)***
16	609.8 \pm 60.1 (8)	531.8 \pm 114 (8)	429.6 \pm 125 (10)**	36.1 \pm 5.2 (9)	86.4 \pm 10.4 (8)***	33.8 \pm 7.2 (8)
25	1085 \pm 52.6 (10)	466.7 \pm 23.9 (9)***	501.7 \pm 38.9 (9)***	16.9 \pm 2.0 (9)	35.1 \pm 9.1 (8)*	65.0 \pm 2.2 (8)***
30	1261 \pm 117 (10)	496.8 \pm 60.7 (9)***	514.6 \pm 102 (10)***	29.5 \pm 3.5 (9)	30.2 \pm 3.9 (9)	47.1 \pm 2.7 (10)***
60	1462 \pm 144 (9)	607.9 \pm 149 (10)***	508.1 \pm 72.2 (9)***	30.4 \pm 3.6 (10)	74.3 \pm 8.7 (9)	56.3 \pm 7.1 (10)
90	2313 \pm 206 (10)	751.1 \pm 105 (10)***	733.5 \pm 164 (10)***	41.1 \pm 5.1 (10)	50.3 \pm 4.9 (10)	106 \pm 9.8 (10)

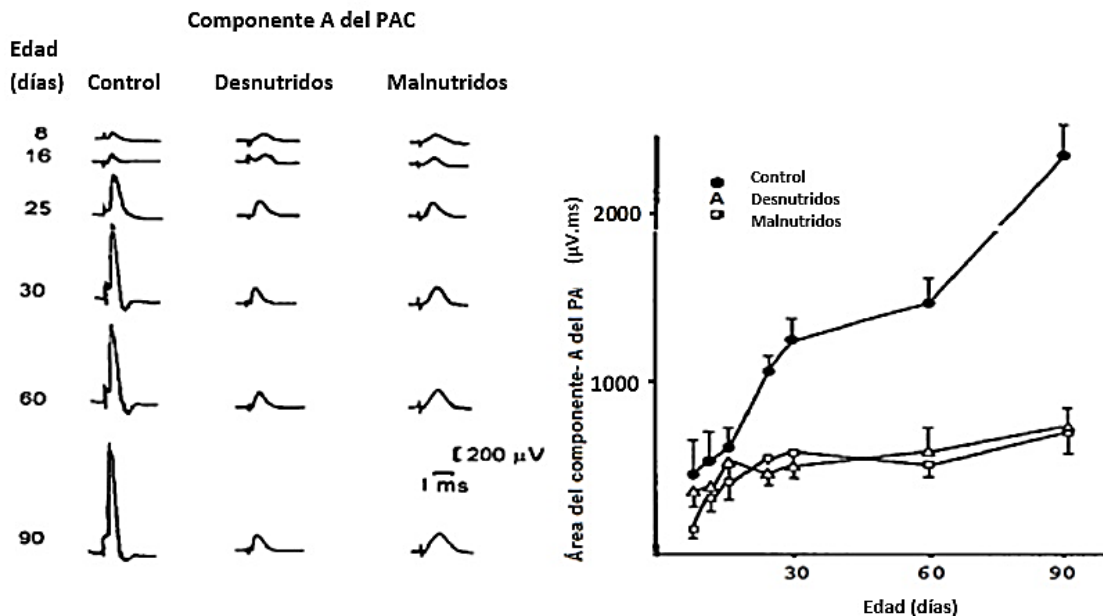
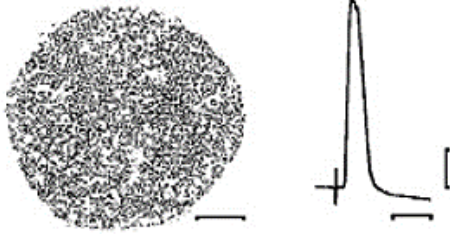


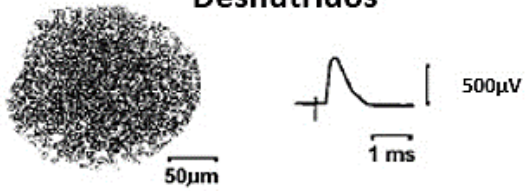
Figura 6. Registros representativos y representacion grafica que muestran el efecto de la desnutricion y malnutricion sobre la amplitud y el área del PAC evodados en el nervio sural (SU) de ratas a diferentes edades postnatales (Modificado de Segura et al., 2001).

EDAD POSTNATAL: 30 DÍAS

Control

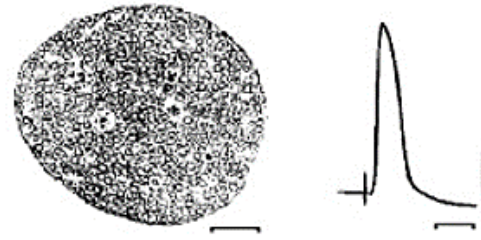


Desnutridos



EDAD POSTNATAL: 90 DÍAS

Control



Desnutridos

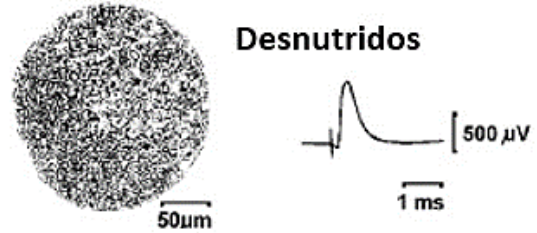


Figura 7. Cortes histológicos transversales y potenciales de acción obtenidos del nervio sural (SU) de ratas control y desnutridas en 30 y 90 días de edad (Modificado de Segura et al., 2004).

2. ANTECEDENTES

2.1 Modelos de Separación Materna

La Separación Materna (SM) es un modelo animal de estudio que involucra la manipulación de la relación madre-cría y tiende a reducir o abolir la percepción de los estímulos sensoriales y sociales en las crías. 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. Por otro lado la SMT consiste en separar las crías de 3-4 días postnatal (DPN) del nido y mantenerlas aisladas en un sistema de crianza artificial durante todo el periodo postnatal predestete que: 1) permite criar a la progenie dentro de un ambiente controlado sin la madre, sin los hermanos de camada, sin el olor del nido, y sin la leche materna, 2) las crías no son privadas de nutrientes, pues el peso corporal y diversos órganos internos (hígado, cerebro, intestinos) de las crías aisladas no difieren del de las criadas por su madre, 3) es factible evaluar de manera específica la participación de cada uno de los estímulos sensoriales, sociales y hormonales involucrados durante este periodo crítico de desarrollo, 4) las crías permanecen en un ambiente con temperatura y humedad controlada, y 5) no están expuestas a estrés crónico, como ocurre en el modelo de SMP.

Este modelo de crianza artificial propone explicar patologías conductuales que se manifiestan en la etapa adulta, y de qué manera influye la conducta materna sobre las crías (Melo 2015; Lomanowska y Melo, en prensa; Fleming et al., 2002; Gonzalez y Fleming, 2002).

2.2 Cuidados Maternos Deficientes por Efecto de la Separación Materna:

Participación de Estímulos Táctiles

Los primeros estímulos táctiles, especialmente aquellos proporcionados por la madre, juegan un papel crucial en el desarrollo emocional, conductual y endocrino (Fleming et al., 2002). Por ende el cuidado materno constituye un factor primordial para el neurodesarrollo normal de los individuos. Sin embargo, si durante el

desarrollo neonatal se presentan periodos de separación materna, se producen en las crías una serie de cambios (a corto y a largo plazo) bioquímicos, morfológicos y conductuales que se han relacionado con algunas enfermedades mentales. En mamíferos el desarrollo físico y psicológico depende de la relación establecida entre la madre y sus crías. Cualquier variación en el cuidado materno representa un factor importante que afecta el desarrollo de las crías.

2.2.1 Efectos Conductuales

Conducta de Agresión

Diversos estudios han señalado que la separación materna utilizando el modelo de crianza artificial incide sobre el desarrollo de las crías. Esta incidencia se manifiesta cuando los individuos son adultos porque presentan alteraciones conductuales. Se ha reportado que ratas que fueron criadas artificialmente son más agresivas, que aquellas que son criadas por su madre i.e., 1) machos juveniles muestran altos niveles de juego-lucha (datos no publicados), 2) machos adultos manifiestan mayor agresividad (Hidalgo-Flores et al., 2013), y 3) hembras lactantes presentan mayor agresión materna (Melo et al., 2009).

Conducta Materna

Por otra parte varios estudios han mostrado que el cuidado materno (lamido-caricia) en la rata durante el periodo postnatal, influye a largo plazo en el desarrollo de la conducta materna. Por ejemplo se encontró que ratas hembra adultas que fueron criadas artificialmente durante el periodo postnatal pre-destete muestran un déficit de cuidados maternos hacia sus propias crías, i. e., emplean menos tiempo en el acarreo y agrupamiento de las crías al nido, menor cantidad de lamidos hacia sus crías, así como una mayor respuesta a objetos novedosos (Melo et al., 2006; 2009). Curiosamente, algunos de los déficits observados en la conducta materna resultado de la crianza artificial se transfieren a la generación siguiente (Gonzalez et al., 2001).

Conducta Sexual

Diversos estudios han mostrado que la interacción madre-crías durante el periodo postnatal pre-destete es crucial para el despliegue de la conducta sexual. Ocupando este mismo modelo de separación materna se ha evidenciado que ratas macho que fueron criadas dentro del sistema de crianza artificial presentan una mayor latencia de monta, latencia de intromisión, además de no presentar el patrón de eyaculación (Aguilar 2012, 2015). Así mismo se ha encontrado que machos criados artificialmente presentan alteraciones en los reflejos peneanos (p.e., de erección) y una reducción del 27% en la longitud de las dendritas en el núcleo espinal bulbocavernoso motor (área que regula los reflejos peneanos) con respecto a los criados por su madre (Lenz et al., 2008). Esto denota que la estimulación que la madre provee a su progenie en la infancia tiene efectos sobre el desarrollo del núcleo espinal del bulbo cavernoso, de los reflejos peneanos y, en la conducta sexual masculina.

2.2.2 Efectos Cognitivos

También se han utilizado pruebas para evaluar el desempeño cognitivo de las crías, como la respuesta inhibitoria de sobresalto por prepulso (PPI, por sus siglas en inglés, parámetro utilizado como modelo de esquizofrenia) que permite que un individuo pueda discernir información sensorial excitadora tal que un estímulo externo irrelevante sea ignorado y solo los importantes sean atendidos. Es por esto que una alteración en el PPI puede significar una sobrecarga de información. Se ha reportado que ratas que sufrieron separación materna y fueron criadas artificialmente (CA) cuando adultas muestran una reducción del PPI (Lovic y Fleming, 2004), así como déficit de atención, de aprendizaje social y de cuidados maternos (Gonzalez et al., 2001; Gonzalez y Fleming, 2004; Levy et al., 2003; Melo et al., 2006, 2009).

2.2.3 Efectos Neuroanatómicos

Recientemente se encontró que la separación materna repetida (parcial) durante los primeros 12 días postnatales provocó una disminución en la longitud dendrítica total y densidad de espinas dendríticas en las neuronas de la corteza prefrontal (PFC), el hipocampo ventral (CA1) y el núcleo Acumbens (NAcc) a los 60 días de edad. El primer estudio de morfología dendrítica en ratas CA mostró que el área preóptica media y el estriado de hembras lactantes (expuestas a crías) manifiestan una mayor arborización dendrítica proximal (cerca del soma) y una menor densidad distal en comparación con lo encontrado en las hembras criadas por su madre (Shams et al., 2012).

Además se ha evidenciado que la experiencia temprana también influye en la expresión de proteínas neurales. Por ejemplo Gonzalez y Fleming (2002) encontraron una disminución en la expresión del número de células inmunoreactivas a c-fos en el área preóptica media, corteza parietal y piriforme en hembras juveniles que fueron CA. Asimismo se ha encontrado que la expresión de c-fos en el área preóptica media (área cerebral que participa en la regulación de la conducta sexual masculina), hipotálamo ventromedial en machos adultos también se ve afectada ya que muestra una disminución en la inmunoreactividad (Akbari et al., 2008).

Por otro lado, Chatterjee y colaboradores (2007) comparó la expresión de proteínas del cerebro, necesarias para el desarrollo del cerebro, entre ratas CM y CA y encontró que en machos juveniles y adultos criados artificialmente muestran concentraciones elevadas de Nue-N (un marcador neuronal) y S-100 (un marcador de atrofitos), pero una reducción en los niveles de sinaptosina (proteína de las sinapsis), N-Cam (moléculas de adhesión celular), GAP-43 (proteínas para la elongación de los axones) en varias regiones del cerebro como el área preóptica media, hipotálamo ventromedial, corteza prefrontal y el núcleo Accumbens. Estos resultados sugieren que los cuidados maternos y la variación de estos pueden alterar, a largo plazo, el funcionamiento del sistema nervioso. Además, que estas modificaciones anatómicas pueden ser relevantes para las conductas alteradas

observadas en la edad adulta de animales que sufrieron separación materna durante el periodo postnatal. A partir de estos estudios se ha podido evidenciar la importancia de la interacción madre-crías durante el periodo postnatal pre-destete, en el desarrollo de las crías. Asimismo, se ha encontrado en humanos que las experiencias adversas en la infancia son importantes determinantes de los trastornos psiquiátricos, que persisten en todo el curso de la vida. La exposición al maltrato, privación del medio ambiente, violencia familiar y la inestabilidad de los padres (el comportamiento criminal, abuso de sustancias) tiene efectos duraderos perjudiciales sobre la salud mental (Nelson, 2012).

Además, se ha encontrado que si durante el aislamiento se provee a las crías rata de estímulos táctiles (con una brocha de cerdas finas), simulando los lamidos corporales de la madre o de estímulos sociales (convivencia con 2 crías de la misma edad) durante el aislamiento, la mayoría de los efectos negativos del aislamiento se previenen. Esto establece que la experiencia sensorial ha mostrado ser crucial en el desarrollo cerebral y conductual durante los periodos críticos (Gonzalez et al., 2001; Melo et al., 2006, 2009; Fleming et al., 2002).

Por otro lado está bien establecido que la mielinización es un proceso altamente dinámico que se inicia durante la vida intrauterina y continua durante el periodo postnatal. (Tolcos et al., 2011). El proceso de mielinización se vuelve más lento a la edad de 15 días y concluye a los 25-30 días (Morgane et al., 1993; Mirsky y Jenssen, 1999).

Existen estudios de desarrollo donde se ha mostrado que la experiencia temprana afecta algunos procesos de la mielinización a nivel del SNC y SNP. A nivel central, se ha encontrado que el destete temprano afecta la expresión de la proteína básica de mielina (MBP por sus siglas en inglés) en el cerebro completo de ratones macho, pero no hembras. En este estudio se utilizaron ratones ICR con el objeto de evaluar el efecto del destete temprano sobre la formación de la MBP, a través de Western Blott, a la semana 3, 5 y 8 postparto. Se encontró que la expresión total de la MBP en cerebros de machos fue inferior en comparación a los machos destetados normalmente en la semana 3 y 5. Sin embargo, los

resultados de la semana 8 no mostraron diferencias entre los grupos. Lo cual podría indicar que la formación de mielina en el sistema nervioso central de machos es alterado por el destete temprano pero no en hembras (Kikusui et al., 2007).

A nivel del sistema nervioso periférico, se ha encontrado que la velocidad a la que se conduce el impulso nervioso es reducida a edades tempranas y se incrementan a medida que el animal crece (Fitzgerald, 1985).

En un estudio se ha reportado que durante la primera semana de vida postnatal hay un incremento gradual en la velocidad de conducción del potencial de acción compuesto, registrado en el nervio ciático de la rata, y esto ha sido relacionado con la formación de la vaina de mielina (Vabnick y Shrager, 1998). Esto coincide con lo reportado por Jeronimo y colaboradores (2005) quienes encontraron que existen cambios morfológicos importantes en el nervio sural relacionados con la edad. Además se ha mostrado que una formación adecuada de la mielina en los nervios periféricos y tractos nerviosos permite la propagación adecuada de los impulsos nerviosos, desde la periferia hacia el sistema nervioso central (SNC) y viceversa. En cambio, la inadecuada mielinización causa alteraciones en la propagación del impulso nervioso, incluyendo una disminución en la velocidad de conducción o una propagación intermitente o inadecuada y bloqueo del potencial de acción (Waxman et al., 1995).

Un estudio reciente ha mostrado que la experiencia temprana afecta las propiedades electrofisiológicas y algunos procesos de la mielinización en el nervio sensorial sural (SU). En este estudio utilizaron el paradigma de crianza artificial (ver más adelante) para evaluar el efecto que produce el aislamiento total temprano y la adicción de estímulos sociales sobre las propiedades electrofisiológicas y características histológicas del nervio sural. Para el registro electrofisiológico y análisis histológico en ratas macho adultas se formaron 3 grupos; criado por su madre (CM) criados en completo aislamiento (CA) y criados artificialmente con la presencia de dos congéneres de la misma edad (CA-Social). Los registros electrofisiológicos mostraron que el umbral eléctrico de las fibras

más excitables en el nervio SU de ratas CM fue inferior con respecto a los grupos experimentales aunque no significativo, por otra parte la amplitud y área normalizada del Potencial de Acción Compuesto (PAC) en el grupo CA fue significativamente menor al que presentaron los CM ($p \leq 0.05$). En cambio encontraron que la convivencia con 2 congéneres de la misma edad durante el aislamiento (CA-Social) influye en el desarrollo de las crías, i. e. que la amplitud y el área del PAC de nervios de ratas del grupo CA-Social fueron similares a las que se encontraron en el grupo CM. Por otro lado que la velocidad de conducción máxima en el grupo CA fue relativamente menor pero no mostro diferencias significativas (Tabla 2 y Figura 8).

En cuanto al análisis histológico, encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre el grupo CM y CA, siendo este último grupo el que presento menor grosor de mielina (7.2 vs 5), área del axón (97.8 vs 57.9) y diámetro (10.7 vs 8.0) más pequeño. Se encontró que la convivencia con 2 congéneres de la misma edad durante el aislamiento (CA-Social) favorece una adecuada mielinización y previene los efectos del aislamiento. Es decir, el grupo CA-Social presento un grosor de mielina (6.4), área (70.7) y diámetro del axón, valores que fueron ligeramente menores que el grupo CM (no mostraron diferencias significativas) pero significativamente mayores que el grupo CA ($p \leq 0.05$). Estos resultados indican que la privación de estímulos sensoriales y sociales de la madre y hermanos de camada durante el periodo postnatal pre-destete inciden negativamente sobre el desarrollo normal del nervio SU. Además la adición de estímulos sociales (grupo CA-Social) durante dicho periodo previenen los efectos antes mencionados (Segura et al., 2014).

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

	CM	CA	CA-Social
Rats	6	10	5
Number of nerves	12	18	10
Electrical threshold (μA)	22.3 ± 7.6	23.2 ± 7.7	26.4 ± 8.2
PAC-Peak amplitude (μV)	2446 ± 445.9	$375.6 \pm 182.9^*$	$1732.8 \pm 652.2^+$
PAC Area ($\mu\text{V/s}$)	1350.5 ± 293.5	$227.4 \pm 121.5^*$	1252.1 ± 310.3
Max. Velocity	57.8 ± 11.4	54.5 ± 8.3	53.3 ± 8.9

*, + indican diferencias estadísticas entre CA y CA-Social con respecto al grupo CM (Modificado de Segura et al., 2014).

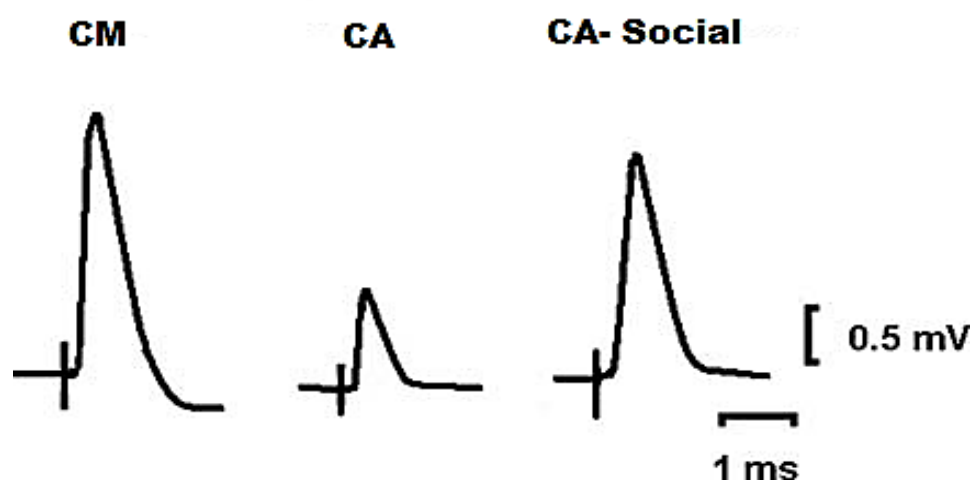


Figura 8. Potencial de acción compuesto (PAC) de nervio SU de ratas macho adultas criada por su madre (CM) aislada (CA) y aislada en convivencia con dos congéneres (CA-Social) (Modificado de Segura et al., 2014).

3. JUSTIFICACIÓN

Los anteriores datos sugieren que la privación de los estímulos táctiles/sociales que provienen de la madre y/o de los hermanos de camada durante el periodo postnatal temprano tiene efectos a largo plazo sobre la integridad anatómica y funcional de las crías. Es decir, estos autores encontraron que el aislamiento materno-social y CA tiene efectos negativos sobre las propiedades electrofisiológicas e histológicas del nervio sensorial SU de la rata macho adulta, y el remplazo de estímulos sociales durante el aislamiento previene dicho efecto. Sin embargo se desconoce si los cambios encontrados en animales adultos ya son evidentes al destete. Además, si los estímulos táctiles (con una brocha de cerdas finas, simulando los lamidos de la madre) previenen las alteraciones del aislamiento. Para ello en el presente trabajo se decidió aislar a crías macho, con o sin estimulaciones táctiles, durante todo el período postnatal y registrar las propiedades electrofisiológicas del nervio SU a la edad de 21 días.

En este sentido, los resultados de las propiedades electrofisiológicas del nervio SU de crías machos de 21 días de edad nos darán información importante acerca de la etapa en que los cambios se observan, así como de las posibles estrategias terapéuticas a través de las estimulaciones táctiles que ayuden en un futuro a proponer estrategias en los humanos.

4. HIPÓTESIS

Si el cuidado materno y la interacción con los hermanos de camada durante el periodo postnatal pre-destete participa en el desarrollo del nervio sensorial SU, entonces;

Hipotesis1.- Las crías que son privadas del cuidado materno y criadas artificialmente presentarán alteraciones en las propiedades electrofisiológicas del nervio SU desde el día 21 postnatal (DPN).

Hipótesis 2.- El re-emplazó de estímulos sensoriales táctiles durante el aislamiento prevendrán los efectos de la CA sobre las propiedades electrofisiológicas del nervios SU.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar los efectos que producen el aislamiento total temprano sobre las propiedades electrofisiológicas del PAC: Umbral eléctrico de activación, amplitud, área, velocidad de conducción máxima y duración, en el nervio sensorial SU de ratas macho al destete, y si dicho efecto se previenen con el re-emplazo de estimulaciones táctiles.

5.2 Objetivos particulares

- 1) Mediante técnicas electrofisiológicas convencionales obtener y analizar las propiedades electrofisiológicas del PAC: umbral eléctrico de activación, amplitud, área, velocidad de conducción máxima y duración en el nervio SU de ratas macho de 21 DPN criados por su madre (CM) y criados artificialmente (CA).
- 2) Establecer si las estimulaciones táctiles durante el aislamiento (CA-Táctil) previenen el efecto del aislamiento sobre las propiedades electrofisiológicas del nervio SU de crías macho de 21 DPN.
- 3) Comparar las propiedades electrofisiológicas del PAC: umbral eléctrico de activación, amplitud, área, velocidad de conducción máxima y duración en el nervio SU de ratas CM, CA y CA-Táctil de 21 DPN.

6. METODOLOGÍA

6.1 Animales

Para la realización de este trabajo se utilizaron ratas primíparas de la cepa Wistar de 3-4 meses de edad, se aparearon con machos sexualmente activos, provenientes del bioterio del Centro de Investigación en Reproducción Animal, CINVESTAV-Laboratorio Tlaxcala, Universidad Autónoma de Tlaxcala para proveer crías experimentales (n= 27). Las ratas hembra gestantes se mantuvieron en jaulas de acrílico transparentes (plexiglás; 44 cm de largo X 28 cm de ancho X 19.5 cm de altura), bajo un esquema de luz/oscuridad: 12:12 horas. La temperatura del bioterio oscilo entre 22 y 24°C. Las ratas se les proporciono alimento balanceado para roedores (Rodent Laboratory Chow 5001; Purina) y agua *ad libitum*.

6.2 Implante de Catéter y Crianza Artificial

El día del parto (día 0), se ajustó la camada y cuatro días después (día 4 postnatal; DPN), 3 machos se separaron del nido y se pesaron. Una de ellas se marcó en el dorso con un plumón de tinta permanente y se regresó inmediatamente para ser criada por su madre. A dos de ellos se les implanto un catéter de polietileno (PE10) en la mejilla. Los dos machos implantados fueron colocados dentro del sistema de crianza artificial y alimentadas con una formula láctea hasta el DPN 21 (ver más adelante).

La cirugía consistió en implantar un catéter en la mejilla de cría para alimentarlo. Para esto se requirió un catéter polietileno (PE-10; IntramedicClay Adams Brand) de diez centímetros de longitud aproximadamente. Un extremo del catéter se expuso al calor para redondearlo, de esta manera se colocó en este sitio una pieza circular de plástico (rondana) que sirvió como ancla en la pared interna de la mejilla de la cría. Para el implante del catéter PE-10 se colocó, dentro de éste, un cable guía de acero inoxidable de 0.25 mm de diámetro y 7.2 cm de longitud,

dejando un extremo de éste fuera del catéter en el cual se introdujo un tubo de silastic (Down Corning) para cubrir dicho extremo y evitar lastimar al crío. Se aplicó anestésico local en la parte interior de la mejilla y con un breve empujón se atravesó la pared de la mejilla. Después de retirar el tubo de silastic y el cable guía se aplicó crema antibacterial (Terramicina) en la mejilla perforada y un seguro elaborado con un catéter de polietileno (PE-50 Intramedic Clay Adams Brand). La duración de la cirugía fue aproximadamente 60 segundos (Figura 9).

Después del implante del catéter PE10, las crías se alojaron individualmente en recipientes de plástico flotando dentro de un acuario lleno de agua caliente ($36\pm 40^{\circ}\text{C}$), dentro de un cuarto mantenido a $24\pm 25^{\circ}\text{C}$ y con una humedad de $46\pm 48\%$. Inmediatamente 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 se colocó 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), las crías recibieron un volumen de leche igual al 33% de peso corporal promedio, y esta cantidad se incrementó 1% por día. Cada mañana éstas se desconectaron de la bomba, se pesaron, los catéteres se limpiaron con agua caliente, las jeringas se remplazaron por otras nuevas con leche artificial y las crías se conectaron nuevamente a la bomba. La velocidad de infusión se volvió a calcular de acuerdo al peso promedio de las crías (Figura 10). En el DPN 21 las crías fueron destetadas (tanto aquellas criadas por su madre como las mantenidas en el sistema de crianza artificial).



Figura 9. A) Cría de 4 días de edad implantada en la mejilla con el catéter P10. B) Estructuras utilizadas para el implante.



Figura 10. Fotografías del sistema de crianza artificial.

6.3 Grupos Experimentales

De las crías macho que se alojaron individualmente en recipientes de plástico, para criarlos artificialmente, se formaron los siguientes grupos: 1) Aislados (CA; n=9), crías que permanecieron solas dentro de un recipiente 2) Aisladas-Táctiles (CA-Táctiles; n=9), crías que permanecieron solas dentro de un recipiente pero recibieron estímulos táctiles; 5 corporal y 5 anogenital durante 45 segundos c/u por día, 3) Grupo control (CM; n=9), crías que fueron criados por su madre. Todas las crías recibieron diariamente dos estimulaciones anogenitales con una brocha húmeda durante 30 segundos para estimular la micción y la defecación (Figura 11). A la edad de 21 días se destetaron y se procedió al registro del nervio sural (Ver más adelante).

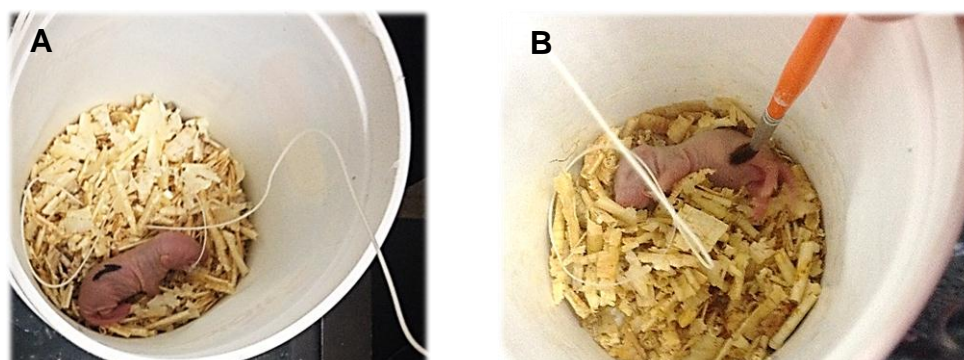


Figura 11. Grupos experimentales dentro de recipientes de plástico de 11mm de diámetro y 20mm de profundidad. A) Cria aislada (CA). B) Cria aislada que recibió 5 estimulaciones táctiles en la región corporal-anogenital (CA-Táctil).

6.4 Preparación de Leche Artificial

La fórmula de la leche proviene de la Universidad de Iowa (Dieta Messer; Messer et al., 1969). Los elementos que se usaron son los siguientes: Zn SO₄, Cu SO₄, Fe SO₄, K Cl, Mg Cl, 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) se pesaron y mezclaron, para su pasteurización se emplearon 90 min y posteriormente se refrigeró a 4°C.

6.5 Registro del Potencial de Acción Compuesto del Nervio Sural

El registro del Potencial de Acción Compuesto (PAC) fue obtenido en el nervio sural de la extremidad posterior de ratas Wistar de 21DPN criadas por su madre (control), y criadas bajo el sistema Crianza Artificial.

6.5.1 Disección del Nervio Sural y Estimulación Eléctrica

Al inicio del experimento, los animales fueron pesados y posteriormente anestesiados con uretano (1.6 g/Kg de peso), administrado vía intraperitoneal. Posteriormente se llevó a cabo la disección del nervio sural (SU), 5-7mm distal al trocánter mayor, se hizo en decúbito prono con una incisión en la línea media posterior de la pierna en la región poplítea a nivel del maléolo lateral. Se cuidó de extraerlo en forma intacta y de un solo corte por cada extremo del nervio.

Después de la disección, el nervio SU se colocó en una cámara de registro con solución Krebs (NaCl 128, KCl 3, NaH₂ PO₄ 0.5, CaCl₂ 1.5, MgSO₄ 1, NaHCO₃ 21, Glucosa 30 mM) a temperatura de 37°C. Al final de la disección, los animales fueron sacrificados mediante una sobredosis de anestésico.

En cuanto se colocó el nervio SU en la cámara de registro uno de sus extremos se introdujo en un electrodo de estimulación, construido con un capilar de vidrio el

cual contiene un alambre de plata clorurada en su interior y un alambre de plata con aislante que la rodeaba en su exterior (excepto en la punta), cuando el nervio SU es succionado queda 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 y duración controlados. El registro del PAC se efectuó mediante un electrodo de registro, también construido con un capilar de vidrio y un alambre de plata en su interior. Este electrodo se conectó a un amplificador (GRASS P511AC), el cual a su vez se conectó a un osciloscopio (Tektronix TDS2024C), para la captura y almacenamiento de la información se conectó una USB al osciloscopio, donde se guardaron los datos para su posterior análisis. El extremo del electrodo de estimulación y registro, por el que se acoplo el nervio, se adaptó lo mejor posible al diámetro del nervio que se succiono. El nervio y las puntas de los electrodos de estimulación y registro estuvieron inmersos en la solución Krebs a pH 7 y temperatura de 37°C (Figura 12).

El PAC fue generado mediante la aplicación de pulsos únicos de corriente, con una duración de 0.05 ms, intensidad variable (μA) y de frecuencia fija (Hz).

Las sesiones experimentales se realizaron utilizando el protocolo experimental siguiente:

- a) Se estableció el umbral eléctrico (1U) de los nervios, como la corriente eléctrica mínima necesaria para generar el PAC.
- b) La respuesta máxima del PAC provocado en los nervios SU fue obtenida al incrementar gradualmente la intensidad del estímulo (1, 2, 3, 4 y 5U).
- c) A partir del PAC se determinaron los siguientes parámetros:
 - a. Amplitud: Se obtuvo al medir la magnitud de respuesta que alcanza el pico del PAC.
 - b. Área: Se calculó mediante la fórmula $A = (L_p - L_i) \cdot \text{Amplitud}$; donde A, es el área bajo la curva del PAC, L_p es la latencia al pico del PAC, L_i representa la latencia inicio del PAC.

- c. La Velocidad de Conducción Máxima: Se calculó mediante la fórmula $V = d / t$; donde V, es la velocidad de conducción del PAC generado por pulsos de corriente de intensidad graduada; d, es la longitud del nervio aislado y t, representa la latencia al pico (L_p) del PAC.
- d. La Duración: Se calculó mediante la fórmula $D = (L_p - L_i) * 2$; donde D, es la duración del PAC, L_p es la latencia al pico del PAC, L_i representa la latencia inicio del PAC (Figura 13).

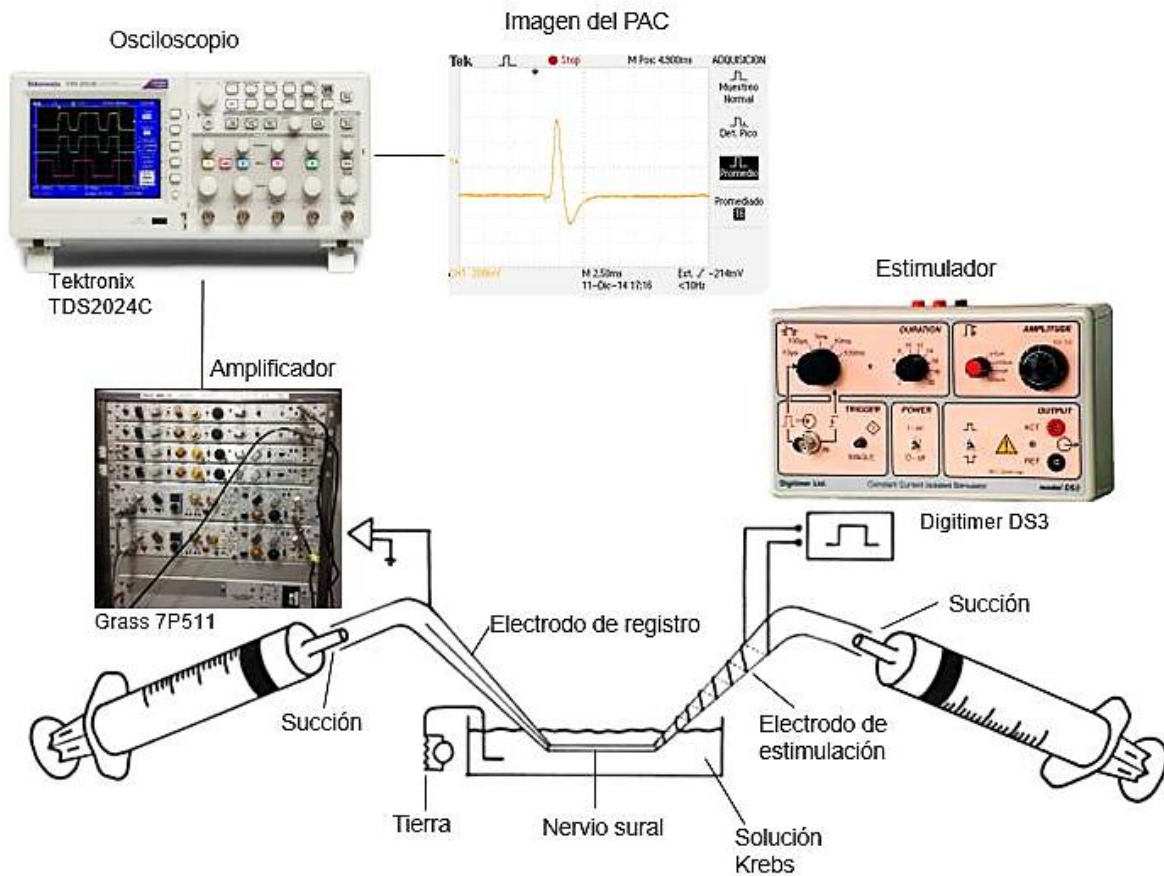


Figura 12. Sistema de registro del Potencial de Acción Compuesto del nervio Sural.

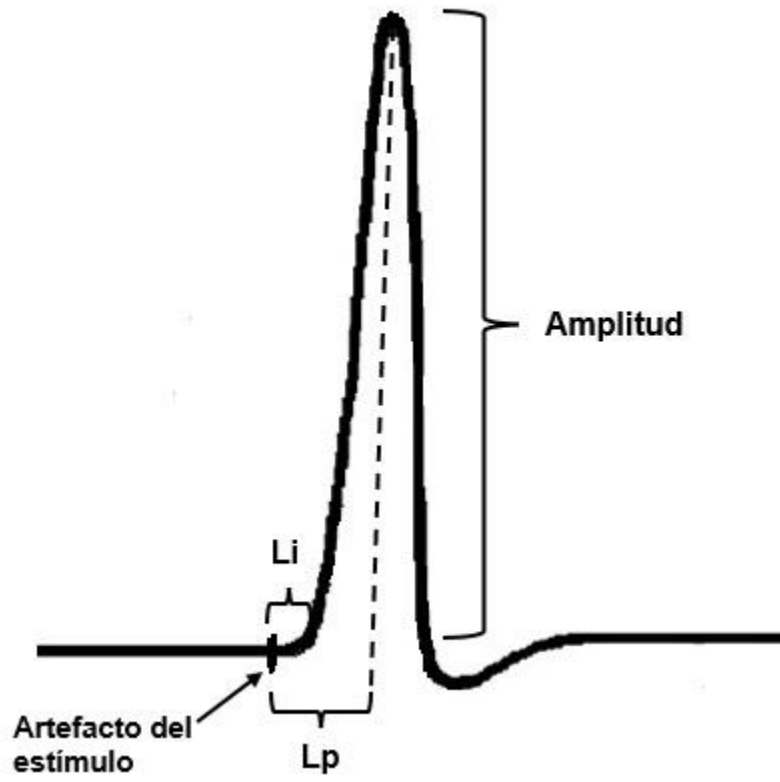


Figura 13. Representación de los parámetros que se obtienen del PAC.

6.6 Análisis Estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados mediante una t student para datos no pareados con la ayuda del paquete de análisis estadístico SPSS (versión 19.0 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL) con el objeto de establecer el efecto del aislamiento total temprano sobre las propiedades electrofisiológicas del nervio sural y la participación de los estímulos táctiles. Los datos son expresados como media \pm E.E y $p < 0.05$ fue considerado significativo.

7. RESULTADOS

7.1 Peso Corporal

Nuestros resultados muestran que el aislamiento no influye en el peso corporal de las crías. Los grupos experimentales mostraron pesos similares en el DPN 21, poco antes de iniciar el registro electrofisiológico las crías fueron pesadas. El peso promedio de las ratas que conformaron cada grupo fue; CM = 35.42 ± 0.48 , CA = 35.37 ± 0.35 , CA-Táctil = 35.64 ± 0.39 . Estos datos muestran que las ratas criadas artificialmente tenían un suministro de alimento adecuado y no sufrieron desnutrición durante la crianza.

7.2 Electrofisiología del nervio sural

7.2.1 Umbral Eléctrico de Activación

Las respuestas electrofisiológicas del nervio SU como el umbral eléctrico de activación dependen del número de axones, y de la excitabilidad de las fibras nerviosas. Las respuestas fueron generadas por estímulos simples, con intensidad de 1, 2, 3, 4 y 5 veces umbral y duración de 0.05 ms, esta estimulación eléctrica del nervio SU permitió la excitación gradual de las fibras y un incremento de la respuesta máxima del PAC. Como se puede observar en la Figura 14, en el primer umbral (1U) la cantidad de corriente eléctrica que se aplicó al nervio SU de ratas CA fue significativamente mayor que la utilizada en el nervio SU de ratas CM (11.444 ± 3.739 vs 8.244 ± 0.808 , respectivamente, $p < 0.05$). Esto también ocurrió en nervios de ratas CA-Táctiles, i.e., la corriente que se aplicó para activar las fibras más excitables fue significativamente mayor que la utilizada para el nervio SU de ratas CM (13.666 ± 2.932 vs 8.244 ± 0.808 , respectivamente, $p < 0.05$). Asimismo, en el umbral 2, 3, 4 y 5 la corriente que se aplicó al grupo CM fue significativamente menor que al grupo CA ($P < 0.05$) y CA-Táctil ($p < 0.05$). En la Figura 15 se muestra una representación gráfica del 3U, en la que se puede apreciar mejor las diferencias antes mencionadas tanto para ratas CM, como para las ratas CA y CA-Táctil.

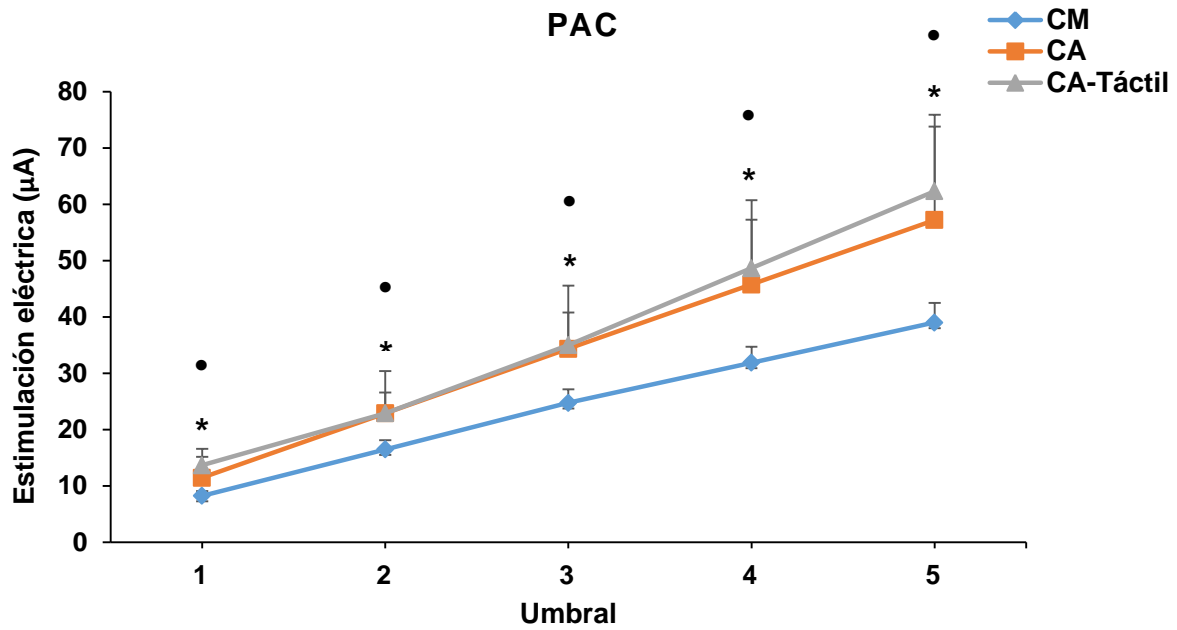


Figura 14. Estimulación eléctrica (μA) (1, 2, 3, 4 y 5U) que en promedio es necesario para provocar el PAC en el nervio SU de ratas CM, CA y CA-Táctil. Los datos se presentan en media \pm E.E., $n=9$ para cada grupo. El grupo CA ($*P<0.05$) y CA-Táctil ($\bullet p<0.05$) muestran diferencias significativas en todos los umbrales con respecto al grupo CM.

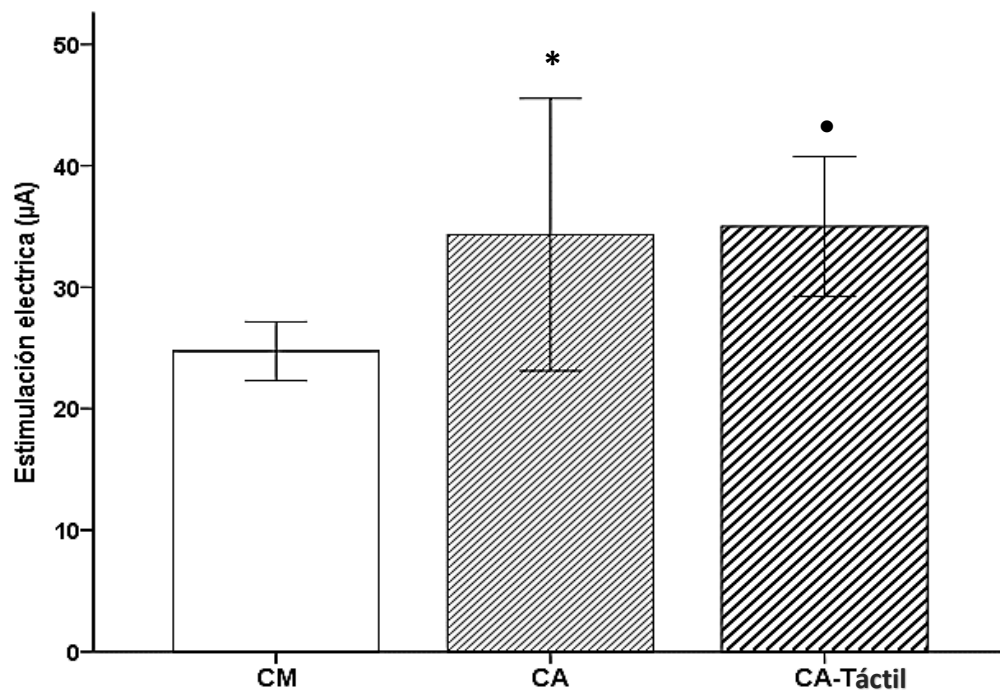


Figura 15. Umbral de estimulación (3U) necesaria para provocar el PAC en el nervio SU de ratas CM, CA y CA-Táctil ($n=9$ para cada grupo). Se muestra media \pm E.E, existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo CA ($*p<0.05$) y CA-Táctil ($\bullet p<0.05$) con respecto al grupo CM.

7.2.2 Amplitud y Área del PAC

Con estímulos de intensidad baja es posible generar el componente A del PAC, el cual resulta de la activación de las fibras aferentes de bajo umbral de activación de tipo A α o A β . En la Figura 16 se muestran los registros representativos del PAC que se obtuvieron al registrar el nervio sural de ratas CM, CA y CA-Táctiles. Como se puede apreciar el PAC registrado en ratas CM incrementa paulatinamente, a medida que incrementa la intensidad del estímulo hasta alcanzar su máxima respuesta (desde una intensidad 1U hasta 5U). En cambio, el PAC registrado en los nervios de ratas CA presenta un escaso incremento, se puede observar que a partir del 2U la respuesta del PAC se mantiene. Por el contrario en el grupo CA-Táctil la respuesta del PAC muestra un incremento gradual, similar al grupo CM como se observa en los registros representativos.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la amplitud y área del PAC registrada en nervios de ratas CA es significativamente inferior a los CM. Estas diferencias significativas se observaron a estímulos de pequeña intensidad a partir del segundo umbral (2U), siendo evidentes en el 3, 4 y 5U (Figura 17 y 18). Con estos estímulos se alcanza la máxima respuesta, en la que la mayoría de los axones, capaces de responder a la estimulación eléctrica son reclutados. En la Figura 19 se muestran los registros representativos de los tres grupos. Se puede observar en detalle las diferencias en amplitud entre los tres grupos. Conviene señalar que estas diferencias entre el grupo CM y CA son más notorias en el 3U, siendo este último grupo el que presentó valores más bajos en amplitud y área (amplitud 1799.11 ± 209.65 vs 577.77 ± 59.45 , $p=0.002$, Figura 20; área 885.15 ± 136.52 vs 307.28 ± 41.43 , $p=0.02$, Figura 21; t-student). Además se puede observar que el PAC registrado en ratas del grupo CA-Táctil presenta una amplitud y área relativamente menor que el PAC registrado en nervios de ratas del grupo CM, pero no muestra diferencias significativas en ningún umbral. Por otro lado cuando se comparó la amplitud y área del PAC entre los grupos CA y los CA-Táctiles, se encontró diferencias significativas a partir del 2U, pero más marcadas

en el 3U siendo este último grupo el de valores más altos en amplitud y área del PAC (amplitud 1347.11 ± 29.92 vs 577.77 ± 59.95 , $p=0.02$, Figura 20; área 795.42 ± 183.29 vs 307.28 , $p=0.03$, Figura 21; t-student).

Los resultados muestran que la respuesta generada por la activación de los axones no se ve alterada en ratas aisladas que recibieron estimulaciones táctiles (CA-Táctil). Lo anterior indica que la excitabilidad de los axones en los nervios del grupo CA-Táctil se va incrementando paulatinamente como ocurrió con el grupo CM. A partir de estos resultados es posible decir que la privación de estímulos sensoriales y/o sociales, por efecto de la crianza artificial, durante el periodo postnatal pre-destete influyen negativamente sobre la amplitud y área del PAC y que la adición de estímulos táctiles previenen los efectos negativos del aislamiento.

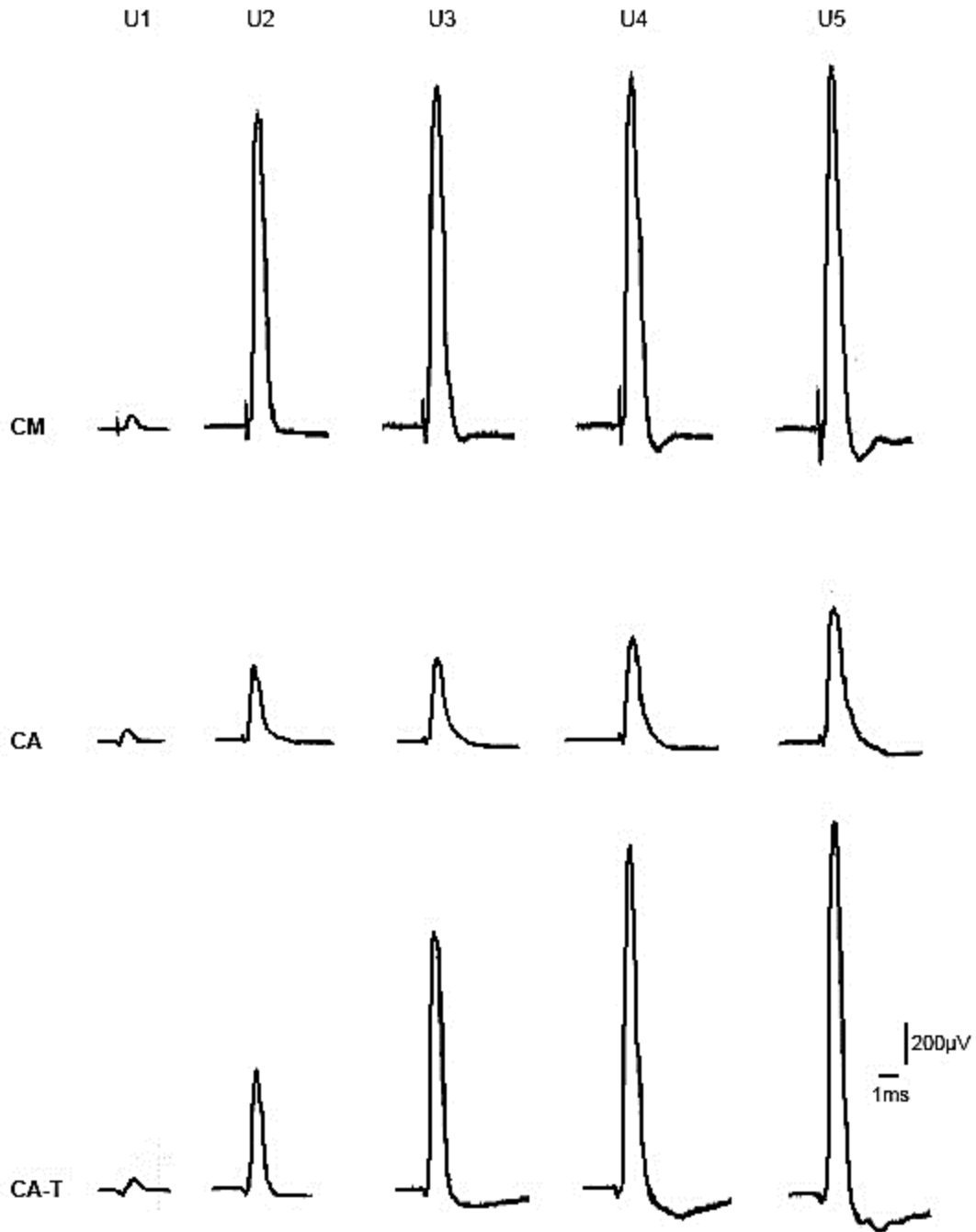


Figura 16. Registros representativos del PAC (1, 2, 3, 4 y 5U) obtenidos en el nervio SU de una rata CM, CA y CA-Táctil, en cada uno de los que se puede observar el efecto provocado por el aislamiento y la adición de estímulos táctiles sobre la respuesta del PAC.

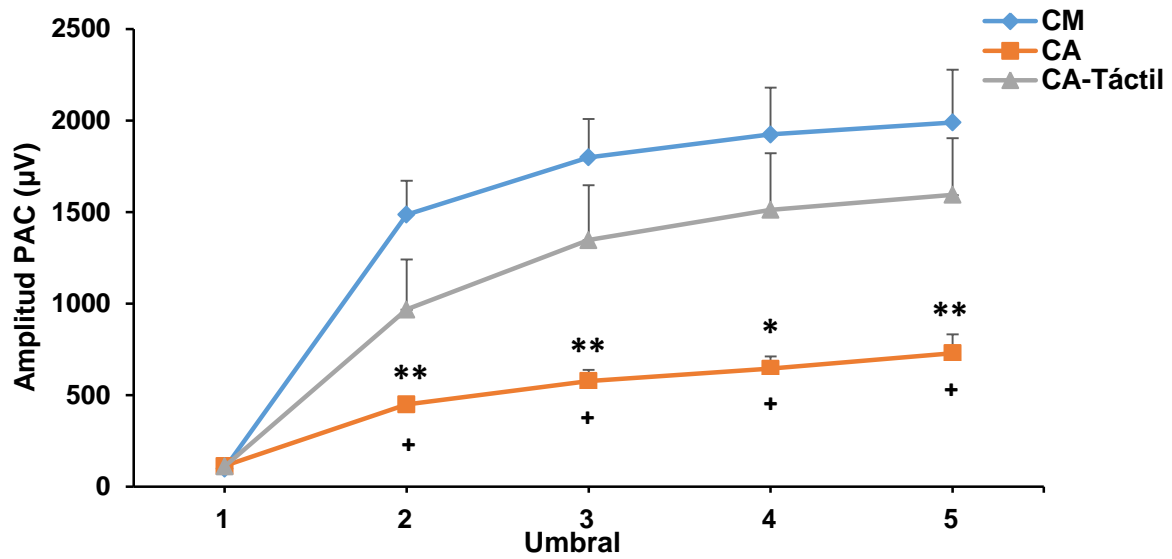


Figura 17. Amplitud del PAC registrado en el nervio SU de ratas CM, CA y CA-Táctil por umbral (1, 2, 3, 4 y 5U). Los asteriscos (*) indican diferencias significativas del grupo CA con respecto a CM. (+) Indican diferencias estadísticamente significativas de CA con respecto a los CA-Táctil. Se muestran medias \pm E.E, t-student; * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$; + $p < 0.05$, ++ $p < 0.005$ n=9 para cada grupo, respectivamente.

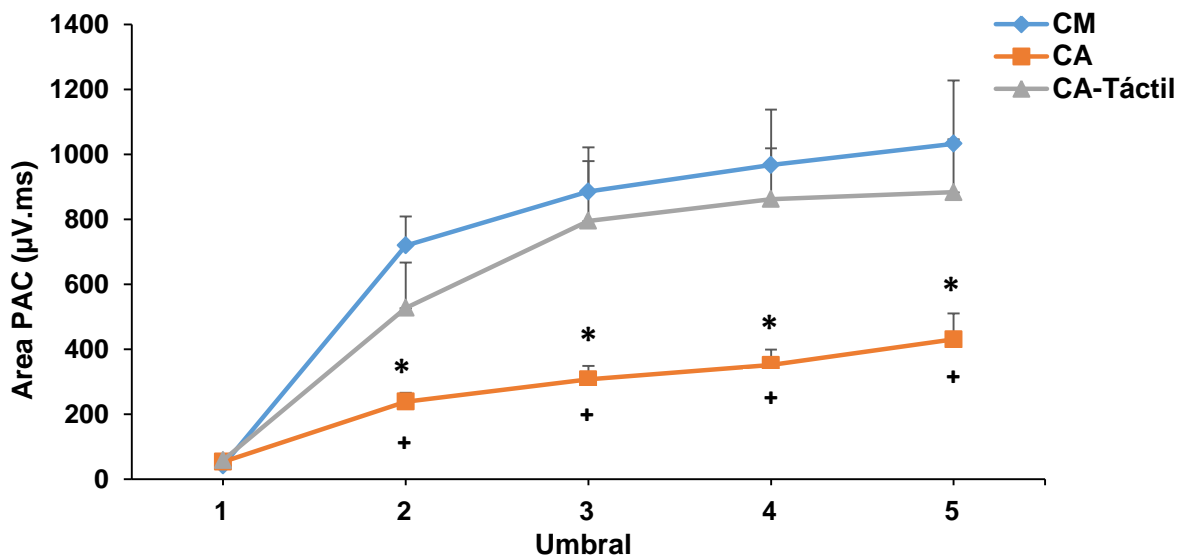


Figura 18. Área del PAC registrado en el nervio SU de ratas CM, CA y CA-Táctil por umbral (1, 2, 3, 4 y 5U). Los asteriscos (*) indican diferencias significativas del grupo CA con respecto a CM. (+) Indican diferencias estadísticamente significativas de CA con respecto a los CA-Táctil. Se muestran medias \pm E.E, t-student; * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$; + $p < 0.05$, ++ $p < 0.005$ n=9 para cada grupo, respectivamente.

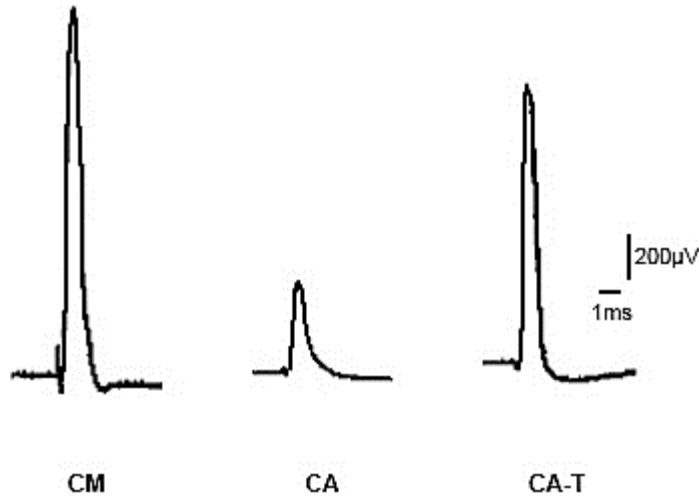


Figura 19. Registros representativos del PAC provocados por estímulos de 3 veces umbral (3U) aplicado en el nervio SU de una rata CM, CA y CA-Táctil, en los que se puede observar el efecto provocado por el aislamiento y la adicción de estímulos táctiles sobre la respuesta del PAC.

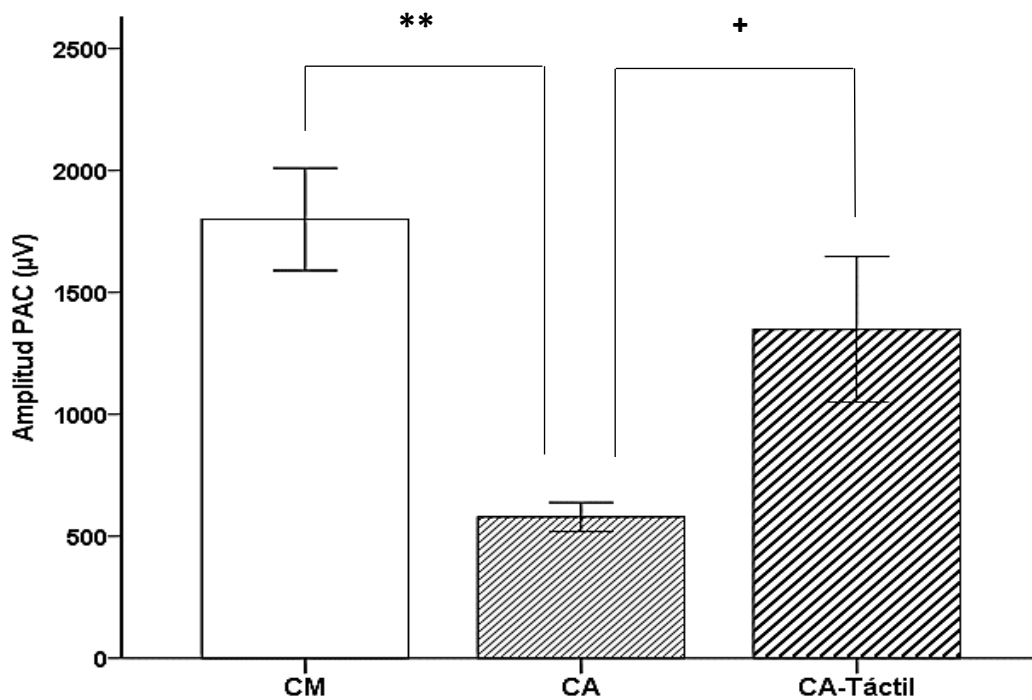


Figura 20. Representación gráfica de la Amplitud evocada por la aplicación de estímulos de corriente de 3 veces umbral (3U), en el nervio SU de ratas CM, CA y CA-Táctil. Se observan diferencias estadísticamente significativas del grupo CA con respecto a los CM (** $p=0.002$) y el grupo CA con respecto al CA-Táctil ($^+p=0.02$). Los valores se expresan en media \pm E.E t-student, $n=9$ para cada grupo.

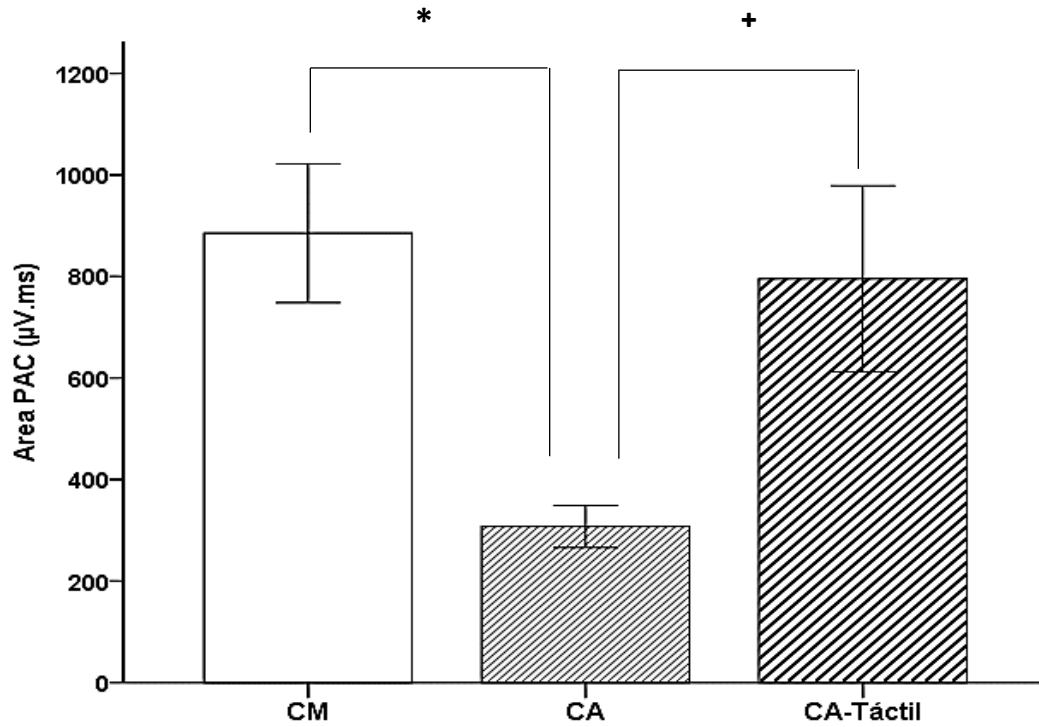


Figura 21. Representación gráfica del Área evocada por la aplicación de estímulos de corriente de 3 veces umbral (3U), en el nervio SU de ratas CM, CA y CA-Táctil. Se observan diferencias estadísticamente significativas del grupo CA con respecto a CM (* $p=0.02$) y el grupo CA con respecto al CA-Táctil ($^+p=0.03$). Los valores se expresan en media \pm E.E t-student, $n=9$ para cada grupo.

7.2.3 Velocidad de Conducción Máxima del PAC

Para evaluar si el aislamiento total temprano produce una reducción significativa en la velocidad del PAC y si el efecto de la estimulación táctil previene dicho efecto, se determinó la velocidad de conducción máxima de las fibras aferentes más rápidas que generan el componente A del PAC en nervios de ratas CM, CA y CA-Táctiles.

En la figura 22 se puede apreciar que la velocidad de conducción máxima del PAC generado en los nervios de las ratas CM, CA y CA-Táctil no presenta diferencias estadísticamente significativas entre sí en ningún umbral (1, 2, 3, 4 y 5U). Sin embargo existe una disminución relativa en la velocidad de conducción máxima del PAC en el nervio SU de las ratas CA y CA-Táctil con respecto a las ratas CM, siendo más pronunciada en el 3U con valores promedio de 19.69 ± 3.40 , 16.88 ± 3.06 y 22.09 ± 3.10 , respectivamente (Figura 23), aunque no fue significativa.

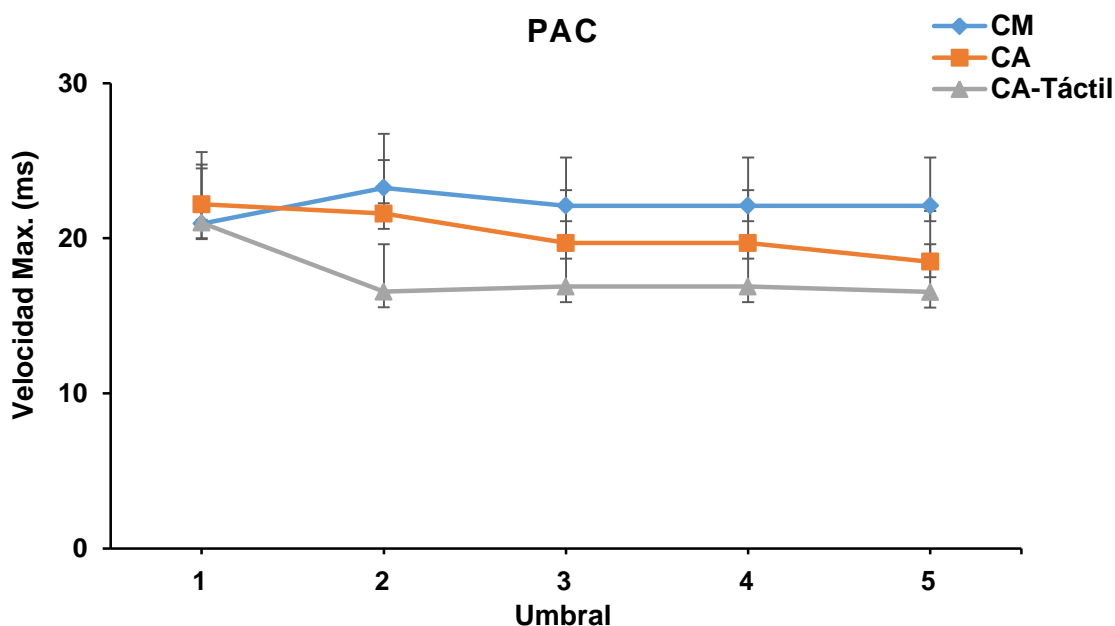


Figura 22. Representación gráfica de la velocidad de conducción máxima registrada PAC en el nervio SU para cada umbral (1, 2, 3, 4 y 5U) en ratas CM, CA y CA-Táctil. Se muestra media \pm E.E; n=9 en cada grupo. No se observaron diferencias significativas.

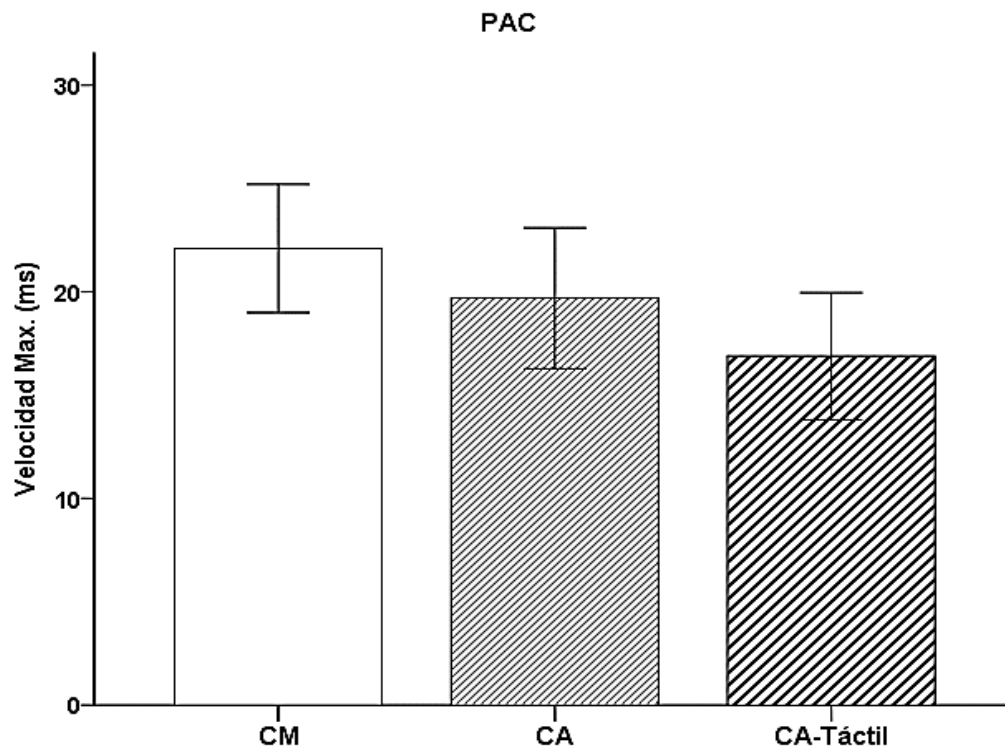


Figura 23. Velocidad de conducción máxima del PAC obtenida en el nervio SU de ratas CM, CA y CA-Táctiles a estímulos de 3 veces umbral para cada grupo respectivamente. Se muestran medias \pm E.E, n=9 para cada grupo. No se observaron diferencias significativas.

7.2.5 Duración del PAC

La duración del PAC que se obtuvo en el nervio SU de ratas CM, CA y CA-Táctiles no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, para los diferentes umbrales (1, 2, 3, 4 y 5U) como se muestra en la Figura 24. En cambio, los datos evidencian una duración (ms) del PAC ligeramente mayor en los grupos CA y CA-Táctiles en comparación con las ratas CM, aunque no significativa. Dicha evidencia se puede apreciar mejor en el 3U con valores promedio de 1.06 ± 0.09 , 1.17 ± 0.07 y 0.95 ± 0.08 , respectivamente (Figura 25).

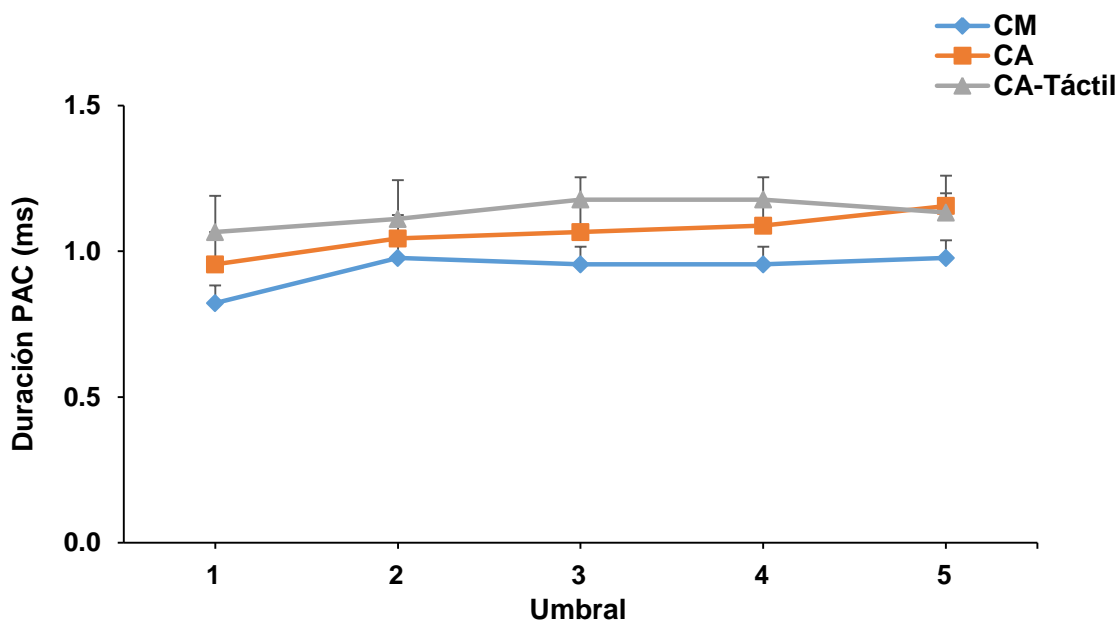


Figura 24. Representación gráfica de la duración del PAC en el nervio SU para cada umbral (1, 2, 3, 4 y 5U) en ratas CM, CA y CA-Táctil. Se muestra media \pm E.E; n=9 en cada grupo. No se observaron diferencias significativas.

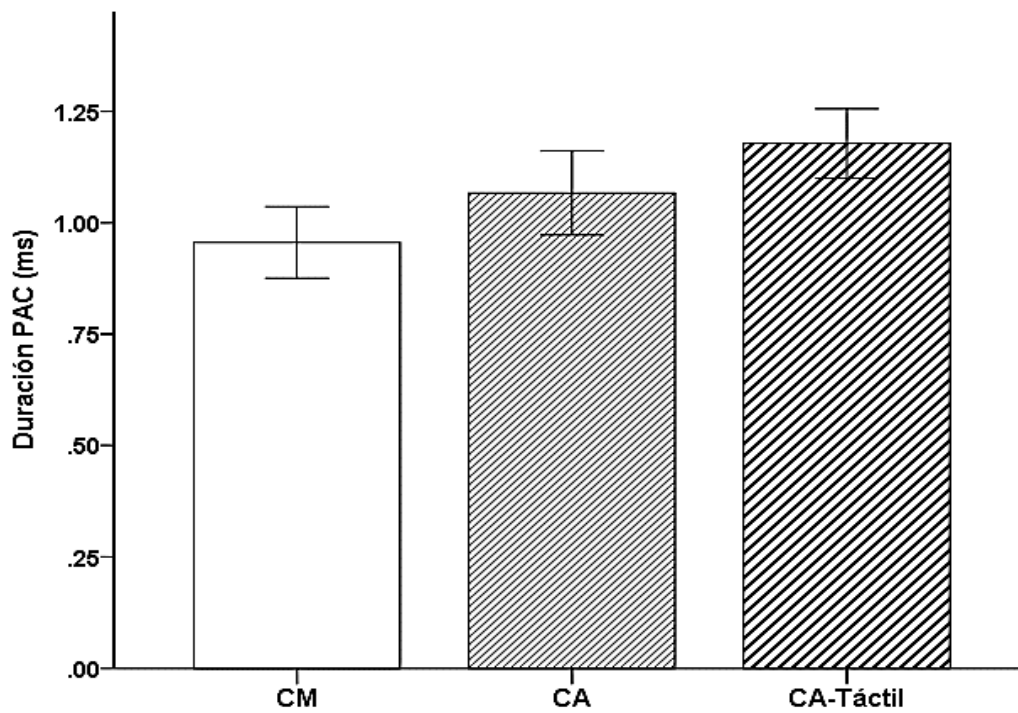


Figura 25. Duración del PAC obtenido en el nervio SU de ratas CM, CA y CA-Táctiles a estímulos de 3 veces umbral para cada grupo, respectivamente. Se muestran medias \pm E.E, $n=9$ para cada grupo. No se observaron diferencias significativas.

8. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio corroboran lo encontrado previamente en ratas macho adultas que fueron criados artificialmente (Segura et al., 2014). Es decir, se encontró que el nervio sensorial sural (SU) de machos adultos que fueron criados artificialmente muestra alteraciones en sus propiedades electrofisiológicas tales como umbral eléctrico de activación, amplitud y área del PAC. Además que el re-emplazo de estímulos táctiles, simulando los lamidos de la madre, previenen la mayoría de los efectos negativos del aislamiento.

Aunque estos resultados no son los primeros en mostrar que la privación materna y de hermanos de camada, durante el periodo postnatal, perturba el desarrollo del nervio SU, si es uno de los primeros en evaluar si los cambios ya son evidentes al destete y si los estímulos táctiles (con una brocha de cerdas finas, simulando los lamidos de la madre) previenen las alteraciones provocadas por el aislamiento.

La validez de los presentes resultados se sustentan por varias razones: 1) los nervios de las crías que fueron CA, pero que recibieron estimulaciones táctiles se comportaron como los de las crías CM, a pesar de haber “sufrido” la crianza artificial, 2) el peso corporal de las crías CA y CA-Táctil fue similar al de las criadas por su madre (CM), 3) aunque no fue evaluado en este estudio, otros autores han reportado que estas crías CA no presentan alteraciones en la responsividad al estrés (Lomanowska et al., 2011a; Ward et al., 2004), como ocurre en otros modelos animales, como la separación maternal repetida o parcial (McCormick et al., 1998). Así, a diferencia de otros modelos de separación materna el sistema de crianza artificial es un modelo confiable por que los animales no sufren estrés crónico ni desnutrición. Por lo tanto se descarta la posibilidad de que los anteriores factores pudieran influir sobre los resultados obtenidos en este estudio. Asimismo es un modelo que permite evaluar de manera específica la participación de los estímulos provenientes de la madre y hermanos de camada.

Los presentes resultados coinciden con lo reportado con anterioridad respecto a que la experiencia sensorial y/o social durante el período postnatal pre-destete participa en el desarrollo tanto del sistema nervioso central (SNC), como del sistema nervioso periférico (SNP). Por ejemplo, existe información que la experiencia sensorial (química) temprana influye sobre el desarrollo del SNP. Ha sido reportado que, los axones del VII nervio craneal y las terminales del núcleo del Tracto Solitario, elementos esenciales para la funcionalidad del sentido del gusto, son perturbado en ratas que fueron criadas artificialmente durante los primeros 10 DPN (Lasiter, 1995). No obstante, la estimulación química de leche de rata, Cl Na, o leche completa en la lengua de crías previene el anterior efecto. Aunque el anterior trabajo sugiere que la privación materna afecta el desarrollo del SNP, éste no evaluó las características electrofisiológicas del nervio sensorial, en contraste con lo analizado en este trabajo.

En el presente trabajo se registró que el umbral eléctrico de activación del PAC fue significativamente mayor en las ratas que se sometieron a aislamiento (CA) con respecto a las ratas CM. Estos datos concuerdan con lo recientemente encontrado en este laboratorio en ratas CA de 14 DPN (Moreno, 2015) quienes muestran un umbral eléctrico de activación significativamente mayor que el registrado en ratas CM. Sin embargo este efecto no fue significativo en ratas macho adultas (Segura, et al., 2014) pues utilizando el mismo modelo de crianza artificial encontraron sólo un ligero incremento en el valor umbral en los nervios SU de las ratas macho adultas CA en comparación con las ratas CM. La falta de diferencia en el umbral entre los machos CA y CM en machos adultos coincide con lo encontrado por Segura y colaboradores (2001, 2004) quienes encontraron que crías desnutridas presentan incremento en el umbral de estimulación en comparación con las bien nutridas, pero a la edad de 60 y 90 DPN, dichas diferencias ya no se observan. Esto probablemente se deba a que durante el desarrollo las fibras nerviosas tienen menor diámetro, pero que se re-establecen posteriormente debido a que son expuestas a ambientes sociales enriquecidos, propios del alojamiento en bioterios (se alojan entre 3-5 ratas por caja). Los presentes resultados sugieren que exista

una reducción en la excitabilidad de las fibras nerviosas, i.e., que para activar las fibras aferentes más excitables del nervio y generar la respuesta del PAC en ratas experimentales es necesario emplear mayor corriente que la utilizada para activar las fibras del nervio SU y generar la respuesta del PAC en ratas CM.

Otra posibilidad de perturbación en la excitabilidad de las fibras de los nervios SU probablemente se deba a alteraciones en las propiedades de la membrana de los axones a través de alteraciones en la conductancia de iones o en la capacidad de los axones para generar el PAC. Estas alteraciones de la membrana podrían deberse a una distribución inadecuada o disminución de los canales de sodio dependientes de voltaje por área de la membrana de los axones (Vabnick et al., 1996, 1998, 1999).

Hasta el momento se desconoce los mecanismos implicados en la privación del cuidado materno y CA para causar este incremento en el umbral para activar el PAC de los nervios SU en ratas de 14 y 21 DPN, así como de ratas macho adultas, pero debido a que el peso corporal de los diferentes grupos fue similar, es poco probable que los presentes efectos se deban a desnutrición. Futuros experimentos deben ser realizados para determinar los mecanismos afectados.

Por otro lado, la observación más notable fue que la amplitud y área del PAC muestra cambios en ratas CA. Es decir, que la amplitud y el área que se registró en nervios de ratas CA fue menor con respecto a lo que se registró en ratas CM. Estos cambios en la amplitud y área del PAC de ratas CA muestra que la privación del cuidado y el contacto con los hermanos de camada en el periodo postnatal pre-destete influyen significativamente en las propiedades electrofisiológicas del nervio SU. Una posible explicación de los anteriores datos es que el número de axones activados en los nervios de ratas CA es sensiblemente menor que el número de axones activados en los nervios de ratas CM. Lo anterior también se puede explicar si se considera que en ratas CA el umbral de activación es mayor, dicha interpretación se basa en los datos de Segura y colaboradores (2003) quienes indican que el decremento significativo en la respuesta del PAC en

animales desnutridos, aunque las crías CA no están desnutridas (al menos su peso corporal es similar al de las crías CM) se debe a una disminución en el número de axones activados por la intensidad del estímulo aplicado y/o a un bloqueo en la transmisión del impulso nervioso, y/o a consecuencia de muerte axonal.

Nuestros datos coinciden con el reporte de Segura y colaboradores (2014), quienes encontraron que la amplitud y área del PAC en ratas adultas CA es significativamente menor que el que presentaron los CM. Lo cual relacionaron con la inadecuada mielinización de las fibras del nervio SU. De hecho, ellos encontraron que el grosor de la mielina y el área de los axones de los nervios SU de las ratas CA fue menor que la encontrada en los nervios de las ratas CM. Es posible suponer que los anteriores parámetros de las crías CA se deban a cambios en las características morfológicas de los axones, y/o el funcionamiento de los nodos de Ranvier. Esto porque dichos nodos tienen un gran densidad de canales de Na⁺, dependientes de voltaje, los cuales son importantes para la generación de los PAC, y por ende tienen incidencia en la amplitud y área obtenida de los registros de los PAC (Poliak y Peles, 2003). Es posible que el intercambio adecuado de Na⁺ durante la estimulación de los axones, i.e., a mayor entrada de Na⁺, mayor despolarización, se le conoce como el Círculo de Hodgkin (Hernández, 2011) puede no estar ocurriendo en los axones de las ratas CA. Es decir, que los axones de los nervios SU de ratas CA tengan baja densidad de los canales de Na⁺ lo cual puede afectar el intercambio de iones (permeabilidad) y por ello una menor despolarización (por menor entrada de Na⁺). Esto coincide con Segura y colaboradores (2001, 2004) quien ha reportado que la disminución en la amplitud y área se debe a una reducción significativa en el grosor de mielina. De acuerdo con esto se sabe que la inadecuada mielinización causa alteraciones en la propagación del impulso nervioso, incluyendo una propagación intermitente o inadecuada del potencial de acción (Waxman et al., 1995). Respecto a esto existe evidencia de que la estructura de las vainas de mielina contribuye a la agrupación de canales dependientes de voltaje (Vabnick et al., 1996; Scherer et al., 2004) y su

distribución en el axón (Ching et al., 1999). Algunos autores han reportado que una alteración en la distribución de los canales iónicos puede incidir negativamente en la regeneración y propagación del potencial de acción (Poliak y Peles, 2003; Scherer et al., 2004). Por ello es factible suponer que la privación de estímulos durante el periodo postnatal pre-destete pueden inducir cambios en la distribución de canales iónicos dependientes de voltaje o bien cambios en la estructura de los nodos de Ranvier que influyen en la respuesta del PAC.

Cabe mencionar que en el presente trabajo la amplitud y el área del PAC registrado en ratas CM está dentro de los valores encontrados por Segura y colaboradores (2001) en ratas en desarrollo. Esto indica que las condiciones de registro fueron las adecuadas. Es necesario realizar futuros estudios que analicen el área de los axones, así como el grosor de la mielina de los nervios SU de las crías CA y CM.

Retomando la hipótesis de la hipomielinización de los axones de los nervios SU de las crías CA, es posible que el efecto del aislamiento sobre el grosor de la mielina en machos adultos ya sea notorio en el DPN 14 (Moreno, 2015), y que dicho efecto ya sea permanente y visible en el DPN 21 (presentes datos). Además se ha descrito que el proceso de mielinización inicia durante la vida intrauterina (día embrionario 12-15 en ratas), picos cercanos al nacimiento, el cual se vuelve más lento a los 15 días postnatales, momento en que células de Schwann están inmaduras, y continua hasta el día postnatal 30 (Mirsky y Jenssen, 1999; Tolcos, 2011). Tomando en cuenta que el proceso de mielinización en los axones periféricos concluye hasta el día 25-30 (Morgane et al., 1993), es válido suponer que a los 21 días postnatales este proceso se ve afectado. Esta suposición se refuerza con lo encontrado por Kikusui y colaboradores (2007) quien observo que la experiencia temprana afecta la expresión de proteína básica de mielina (MBP) en el sistema nervioso central, i. e., la separación de la madre y hermanos de camada a los 14 días edad incide negativamente en la expresión de MBP, se ha encontrado que en la semana 3 y 5 esta expresión es reducida. Otras evidencias apoyan lo hipótesis de que la falta de cuidado materno participa en el desarrollo de

procesos morfológicos, por ejemplo, la longitud dendrítica y densidad de espinas dendríticas de neuronas del hipocampo, Corteza prefrontal, núcleo Acumbes, hipotálamo y cuerpo estriado es menor en ratas que recibieron bajos niveles de cuidado materno (Champagne, 2008; Champagne et al., 2004,) o separación materna parcial (Monroy 2010; Shams 2012). También se ha encontrado que el número de dendritas del núcleo espinal bulbocavernoso es significativamente menor en machos adultos que fueron CA, en comparación con los CM (Lenz et al., 2008). Otros efectos de la separación materna se observan en la expresión de proteínas neurales (González 2002; Akbari, 2008; Chatterjee, 2007). Así, machos juveniles y adultos que fueron CA, muestran bajos niveles de sinaptofisina, GAP-43, BDNF, proteínas que participan en la formación de sinapsis, en el alargamiento de los axones y como factores neurotróficos, respectivamente, en varias áreas neurales como la Corteza Prefrontal, en núcleo Acumbens, etc. (Chatterjee et al., 2007). Es evidente que los estímulos sensoriales y/o sociales en etapas críticas de desarrollo inciden tanto en el sistema nervioso central como periférico, como lo muestran nuestros resultados.

En este modelo animal de separación materna total y CA, se ha evaluado la participación específica de dichos estímulos. Así, con la finalidad de prevenir los efectos del aislamiento (CA) en un grupo adicional (CA-Táctil) se les administró estímulos táctiles con una brocha de cerdas finas de camello simulando los lamidos de la madre durante el aislamiento. Se ha encontrado que los efectos negativos a nivel fisiológico, cognitivo, emocional, motor y conductual de la CA son prevenidos en ratas que son CA, pero que recibieron estímulos táctiles o sociales durante el aislamiento (Melo, 2015; Lomanowska y Melo, en prensa). Por ejemplo, a nivel central se ha reportado que la estimulación táctil simulado experimentalmente previno los efectos negativos sobre la arborización dendrítica (Lenz et al., 2008). Además encontraron que al número de células inmunoreactivas a c fos en el APOM fue similar al de los machos CM (Gonzalez et al., 2002; Akibari et al., 2008).

Sin embargo, contrario a nuestras expectativas, el re-emplazo de estímulos táctiles (corporales+anogenitales) no previno los efectos del aislamiento sobre el umbral de activación del PAC, como ocurrió con los otros parámetros electrofisiológicos (amplitud y área del PAC), efecto que ya es detectado en crías de 14 DPN (Moreno, 2015). Un efecto similar se observó en el grupo de re-emplazo de estímulos en el estudio de Segura y colaboradores (2014). Solo que ellos agregaron dos crías extrañas dentro del recipiente de aislamiento (grupo CA-Social), en lugar de dar estímulos táctiles. Lo interesante de los presentes resultados es que el re-emplazo de estímulos táctiles en el presente trabajo, en el de Moreno (2015), y en el de Segura y colaboradores (2014; en este caso, estímulos sociales) si previno, parcialmente, los efectos de la CA. Esto porque la amplitud y área del PAC registrada en los nervios SU del grupo CA-Táctil es intermedia entre los otros dos grupos, i.e., no alcanza los niveles de los de los nervios CM pero es mayor que los CA. Lo cual podría indicar que la excitabilidad de un número de axones en los nervios del grupo CA-Táctil esta reducida y se va incrementando paulatinamente conforme la intensidad del estímulo es mayor hasta alcanzar su máxima respuesta, lo cual reduce, pero no impide que se genere el PAC, tendencia que también se observa en el grupo CM. Estas observaciones sugieren que la adición de estímulos táctiles simulando los lamidos de la madre previene el efecto negativo del aislamiento sobre la amplitud y área del PAC.

Explicación que coincide con innumerables trabajos en los que se ha encontrado que si durante el aislamiento se provee a las crías rata de estímulos táctiles y sociales la mayoría de los efectos negativos del aislamiento se previenen (Gonzalez et al., 2001; Melo et al., 2006, 2009; Fleming et al., 2002; Chartejee et al., 2007). A partir de estos resultados es posible decir que los estímulos proporcionados por la madre y hermanos de camada son cruciales en la respuesta del PAC. Estímulos que posiblemente se transmiten a la medula espinal a través de los aferentes sensoriales primarios de la piel perineal y dorsal. De modo que, el efecto preventivo de los estímulos táctiles de re-emplazo probable se deba a que

la estimulación táctil, actúa como un estímulo eléctrico, y es una forma eficiente que influye en la actividad de los axones para generar potenciales de acción (Ishibashi et al., 2006). Además se ha mostrado que son los propios potenciales de acción los responsables en inducir la mielinización (Demerens, 1995; Stevens et al., 1998). También existen estudios que muestran que la estimulación táctil es una forma eficiente de manipulación neonatal que favorece los niveles altos de expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (FNDC), así como el aprendizaje y la memoria (Liu et al., 2000), también favorece la mielinización, como se mencionó anteriormente (Kikusui et al., 2007).

Por otro lado se sabe que la entrega oportuna de información es esencial para el buen funcionamiento del sistema nervioso. Es necesaria una regulación precisa de la velocidad de conducción nerviosa para la correcta integración sensorial procedente de la periferia a centros superiores en el cerebro para producir respuestas motoras adaptadas al entorno sensorial y al estado del individuo (Rivera, 2006).

La velocidad a la que se conduce el potencial de acción a lo largo del axón depende tanto de su grosor como de la presencia de vaina de mielina (Keynes y Aidley, 1985).

En los resultados de velocidad de conducción máxima, se observó que el PAC en ratas CA y CA-Táctil presentaron una velocidad de conducción menor que aquellas que fueron CM. No obstante la velocidad de conducción del PAC entre estos grupos no muestra diferencias significativas. La disminución de la velocidad de conducción del PAC probablemente se deba a un enlentecimiento en el desarrollo de los procesos de depósito y compactación de la mielina en los axones del nervio SU. Esto es similar a lo previamente descrito por Segura y colaboradores (2014), quien encontró que la velocidad máxima del PAC en ratas macho adultas CA y CA-Social, es relativamente menor que la registrada en ratas CM pero no muestra diferencias significativas. Quienes también encontraron que el área del axón y grosor de mielina se ve afectado en aquellos nervios de ratas CA, pero en nervios de ratas CA-Social el grosor de mielina no está afectado.

La estructura de los axones mielinizados, incluyendo la arquitectura de los nodos de Ranvier, en el cual se produce la conducción saltatoria, es importante porque favorece la conducción rápida del impulso nervioso (Dupree et al., 2004). Además se sabe que la eficiente y rápida transmisión axonal a través de la conducción saltatoria depende críticamente de la función de los canales iónicos dependientes de voltaje. Canales que durante la primera semana postnatal incrementan simétricamente a lo largo del axón y que además este incremento es inducido por las células de Schwann (Vabnick et al., 1996, 1998; Rasband et al., 1998). Por ello es factible considerar, que en los animales sujetos a una privación de estímulos sensoriales maternos pudieran presentar un enlentecimiento en el proceso de mielinización. No obstante, se sabe que el proceso de mielinización no concluye sino hasta los 25-30 días, en este sentido, tal vez no existe una diferencia marcada entre fibras mielinicas y amielinicas lo que provoca que la velocidad de conducción sea similar entre los grupos.

Cabe mencionar que en el presente trabajo se encontró que la velocidad de conducción del PAC en ratas CM de 21 DPN es menor que en ratas adultas CM (Segura et al., 2014). Esto último, permite sugerir que a medida que crecen los axones en los nervios, van adquiriendo paulatinamente la capacidad de transmitir el PAC. Esto se refuerza con algunos trabajos en los que se ha reportado que la velocidad de conducción del PAC a edades tempranas es reducida y se incrementa gradualmente conforme el animal crece (Fitzgerald, 1985; Vabnick y Shrager, 1998; Segura et al., 2001).

De manera similar a la velocidad de conducción máxima, la duración del PAC en los tres grupos no mostró diferencias significativas, aunque la duración en los grupos experimentales fue mayor. Para explicar lo anterior, debe recordarse que la velocidad de conducción es asociada positivamente con la mielinización, de manera que es válido suponer que la duración del PAC también se ve afectada por un enlentecimiento en el proceso normal de mielinización. Sin embargo es necesario realizar futuros estudios que analicen la morfología y fisiología de los axones.

Con los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede apreciar que la experiencia temprana a través del cuidado materno participa en el desarrollo de las propiedades electrofisiológicas del nervio sensorial SU. Así que cualquier variación en la conducta materna modifica negativamente las propiedades electrofisiológicas del nervio SU. Modificaciones que son evidentes al destete. Además permiten proponer que la adición de estímulos táctiles durante la crianza previene dicho efecto. Asimismo apoyan la propuesta de que los estímulos sensoriales y/o sociales no solo están involucrados en el desarrollo del SNC sino que también están involucrados en el desarrollo del SNP. Por otro lado la rata como modelo de estudio nos permite conocer y dar una aproximación de lo que pudiese estar sucediendo en humanos que durante su infancia sufrieron maltrato, violencia familiar o fueron huérfanos, así como las posibles estrategias que a través de las estimulaciones táctiles, que pueden prevenir efectos adversos de la experiencia temprana.

9. CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo muestran que la separación materna y crianza artificial durante el período postnatal pre-destete afecta el desarrollo de algunas propiedades electrofisiológicas del nervio sensorial SU de la rata macho de 21 días de edad:

- Provoca un aumento significativo en el umbral eléctrico de activación y una disminución significativa en la amplitud y área del PAC.
- No afectó la velocidad de conducción máxima, ni la duración del PAC.

La estimulación táctil durante el periodo postnatal pre-destete previene el efecto del aislamiento sobre las propiedades electrofisiológicas del nervio SU, permitiendo que la respuesta del PAC en el nervio SU sea similar al registrado en ratas CM.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar CE (2012). Efecto del aislamiento social y maternal durante el periodo postnatal sobre el desarrollo de la conducta sexual y pseudo-maternal en la rata macho Wistar adulta. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- 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.
- Brushart TM (2011). Peripheral nerve anatomy and function. En: *Nerve repair*. Oxford University press. New York. pp. 3-26.
- Burton RR y Paige JL (1981). Polarity of axoplasmic microtubules in the olfactory nerve of the frog. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 78: 3269-3273.
- Carroll ST, Millar ML, Frohnert PW, Kim SS y Corbet JA (1997). Expression of neuregulins and their putative receptors. ErbB2 and ErbB3, is induced during wallerian degeneration. *The Journal of Neuroscience*. 17: 1642-1659.
- Champagne FA (2008). Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 29: 386-397.
- Champagne FA, Chretien P, Stevenson CW, Zhang TY, Gratton A y Meaney MJ (2004). Variations in Nucleus Accumbens dopamine associated with individual differences in maternal behavior in the rat. *The Journal of Neuroscience*. 24: 4113-4123.
- Chan JR, Cosgaya JM, Wu YJ y Shooter EM (2001). Neurotrophins are key mediators of the myelination program in the Peripheral Nervous System. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 98: 14661-14668.

- Chatterjee D, Chatterjee-Chakraborty M, Rees S, Cauchia J, B. de Medeiros C y Fleming AS (2007). Maternal isolation alters the expression of neural proteins during development: 'Stroking' stimulation reverses these effects. *Brain Research*. 11: 11-27.
- Ching W, Zanizzi G, Levonson R, Salzer J (1999). Clustering of neuronal sodium channels requires contact with myelinating Schwann cells. *The Journal of Neurocytology*. 28: 295-301.
- Corfas G, Valverde MO, Ko C-P, Ratner N, Peles E (2004). Mechanisms and roles of axon-Schwann cell interactions. *The Journal of Neuroscience*. 24: 9250-9260.
- Demerens C, Stankoff B, Logak M, Anglade P, Allinquant B, Couraud F, Zalc B (1996). Induction of myelination in the central nervous system by electrical activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 93: 9887-9892.
- Dupree JL, Mason J, Marcus JR, Stull M, Levinson R, Matsushima GK y Popko B (2004). Oligodendrocytes assist in the maintenance of sodium channel clusters independent of the myelin sheath. *Neuron Glia Biology*. 1: 179-192.
- Erlanger J y Gasser HS (1937). *Electrical signs of nervous activity*. University Pennsylvania Press. Philadelphia.
- Fitzgerald M (1985). The postnatal development of cutaneous afferent fiber input and receptive field in the rat dorsal horn. *The Journal of Physiology*. 364: 1-18.
- Fleming AS, Kraemer GW, Gonzalez A, Lovic V, Rees 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 (1973). Mechanism of myelin sheath expansion. *Progress in Brain Research*. 40: 425-436.

- Friede RL, Brzoska J y Hartmann U (1985). Changes in myelin sheath thickness and internode geometry in the rabbit phrenic nerve during growth. *Journal of Anatomy. (Lond)*. 143: 103-113.
- 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.
- Gal I (2001). *Bases de la Fisiología*. Ed. Tébar. pp. 35-54.
- Geneser F (2000). *Histología: sobre bases moleculares*. Editorial Médica Panamericana. México. pp. 327-376.
- 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 emotionality in female rats. *Developmental Psychobiology*. 38: 11-32.
- González-Mariscal G y Melo AI (2013). Parental behavior. En D. Pfaff (Ed.), *Neuroscience in the 21st century*. Springer Science- Business Media. 4: 2069-2100.
- González-Mariscal G y Poindron P (2002) Parental care in mammals: Immediate and sensory factors of control. In: Pfaff D, Arnold AP, Etgen AM, Fahrbach SE, and Rubin RT (Eds.) *Hormones, Brain and Behavior*, Academic Press. San Diego. pp. 215-298.
- Greene EC (1959). *Anatomy of the rat*. New York: Hafner Publishing CO.
- Gutiérrez AL (2000). Efecto de la desnutrición sobre el potencial de acción compuesto (PAC) del nervio sural, durante el desarrollo postnatal de la rata (*Ratus norvegicus* var. Wistar). Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM.

- Gutierrez R, Boison D, Heineman O y Stoffel W (1995). Decompactation of central nervous system myelin leads to a reduction of the conduction velocity of action potential in optic nerve. *Neuroscience Letters*. 195: 93-96.
- Guyton C y Hall E (2001). *Tratado de Fisiología Medica*. 10a Ed. Mc Graw Hill Interamericana.
- Heideman S, Landers JM y Hamborg MA (1981). Polarity orientation of axonal microtubules. *The Journal of the Cell Biology*. 91: 661-665.
- Hernández Vázquez OH (2011). Excitabilidad neuronal. En O. H. Hernández Vázquez, *Elementos básicos de neurofisiología*. México: Trillas. pp. 57-68.
- Hidalgo-Flores AP, Escartin-Pérez RE, Florán-Garduño B, Corona F, Aguilar C, Flores-Jiménez M, Fleming AS, Hoffman LK y Melo AI (2013). Effect of maternal and social isolation during postnatal pre-weaning period on the development of aggression and serotonin levels in prefrontal cortex, nucleus accumbens and, dorsal and medial raphe in the adult male rat. *Neuroscience 2013, San Diego CA, USA (Poster)*.
- Hofer MA (1994). Early relationships as regulators of infant physiology and behavior. *Acta Paediatrica Supplement*. 397:9-18.
- 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.
- Jeronimo 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.
- Jessen KR, Mirsky R (1999). Schwann cells and their precursors emerge as major regulators of nerve development. *Trends Neuroscience*. 22: 402-410.
- Kandel ER, Schwartz JH y Jessell TM (1997). *Principle of neural science*. Appleton and Lang. Norwalk, Connecticut. pp. 349-351.
- Kandel ER, Schwartz JH y Jessell TM (2001). *Principles of neural science*. New York: McGraw-Hill. pp. 82-84.

- Keynes AM y Aidley DJ (1985). Nerve and Muscle. Cambridge University Press. Cambridge. pp. 1-10.
- 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.
- Lasiter PS (1995). Effects of orochemical stimulation on postnatal development of gustatory recipient zones within the nucleus of the solitary tract. Brain Research Bulletin. 38: 1-9.
- 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.
- Liu D, Diorio J, Day JC, Francis DD, y Meaney MJ (2000). Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. Nature Neuroscience. 3: 799-806.
- Lomanowska AM y Melo AI (2015). Deconstructing the function if maternal stimulation in offspring development: Insights the artificial rearing model in rats. In prep.
- Lomanowska AM, Chatterjee-Chakraborty, Steiner M y Kraemer GW. (2011a). Effects of motherless rearing on basal and stress-induced corticosterone secretion in rat pups. Stress (Amsterdam, Netherlands). 14: 685-696.
- 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.
- McCormick CM, Kehoe P y Kovacs S (1998). Corticosterone release in response to repeated, short episodes of neonatal isolation: evidence of sensitization. *International Journal Developmental Neuroscience*. 16: 175-185.
- Melo AI (2015). Rol of sensory, social and hormonal signals from the mother in the development of offspring. M. C. Antonelli (Ed.) *Perinatal Proqraming of Neurodevelopment*. Springer Bussines-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. *Behavioural 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.
- Melo AI, Toriz CG y Kinsley C (2013). Regulación hormonal, sensorial y social de la conducta materna en mamíferos: Efectos sobre la madre y sobre el desarrollo de la progenie. *Procesos Fisiológicos, Conductuales y Toxicológicos de la Reproducción*.
- Mercado VE (2004). Fallas en la conducción del potencial de acción del nervio sural de la rata desnutrida. Tesis para obtener el título de biólogo. Facultad de estudios superiores Iztacala UNAM.
- Messer M, Thoman EB, Galofre A y Dallmen PR (1969). Artificial feeding of infant rats by continous infusion. *Journal of Nutrition*. 98: 404-410.
- Mirsky R y Jessen KR (1999). The Neurobiology of Schwann Cells. *Brain Pathology*. 9: 293-311.

- 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 (1992). Variation in maternal care in individual differences in play, exploration and grooming of juvenile Norway rat offspring. *Developmental Psychobiology*. 25: 165-182.
- Moreno 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.
- Morgane PJ, Austin-LaFrance RJ, Bronzino J, Tonkiss J, Díaz-Citra S, Cintra L y Galler JR (1993). Prenatal malnutrition and the development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 17: 91-128.
- Munro M y Crick FHC (1971). The time needed to set up a gradient: Detailed calculations. *Symposia of the Society for Experimental Biology*. 25: 439-453.
- Nelson CA (2012). The effects of early life adversity on brain and behavioral development. Alliance D (Ed). Boston Children's Hospital/Harvard Medical School, Harvard Center on the Developing Child.
- 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.
- Petryna A y Bavera G (2002). Etología. Cursos de producción bovina de carne. 1-15.
- Poliak S y Peles E (2003). The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier. *Nature, Reviews Neuroscience*. 4: 968-980.
- Quiroz-Gonzalez S, Segura-Alegria B, Guadarrama-Olmos JC y Jimenez-Estrada I (2012). The effect of chronic undernourishment on the synaptic depression of cutaneous pathways in the rat spinal cord. *Brain Research Bulletin*. 89: 97-101.

- Rasband M, Trimmer JS, Schwarz TL, Levinson SR, Ellisman MH, Schachner M, Shrager P (1998). Potassium channel distribution, clustering, and function in remyelinating rat axons. *The Journal of Neuroscience*. 18: 36-47.
- Rivera I (2006). Papel de los canales de potasio tipo M en la transmisión nociceptiva a través de la médula espinal. Tesis Doctoral en Fisiología. Universidad de Alcalá.
- Ropper AH y Brown R (2005). Enfermedades de la medula espinal, nervios periféricos y musculo. En: *Principios de neurología*. Editorial. McGraw-Hill Mexicana. pp. 1110-1113.
- Rosenblatt JS y Lehrman DS (1963). Maternal behavior of the laboratory rat. En H. L. Rheingold (Ed.), *Maternal Behavior in Mammals*. New York: Wiley. pp. 8-57
- Scherer SS, Arroyo EJ, Peles E (2004). Functional organization of the nodes of Ranvier. In: *Myelin biology and disorders*. Lazzarini RA, Griffin JW, Lassman H, Nave KA, Miller RH, Trapp BD (Eds.). Oxford: Elsevier pp. 89-116.
- 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, Guadarrama JC, Gutierrez AL, Merchant H, Cintra L y Jiménez I (2001). Effect of perinatal food deficiencies on the compound action potential evoked in sensory nerve of developing rats. *Nutritional Neuroscience*. 4: 475-488.
- Segura B, Guadarrama JC, Pratz G, Mercado V, Merchat L, Cintra L y Jiménez I (2004). Conduction failure of action potential in sensory sural nerves of undernourished rats. *Neuroscience Letters*. 354: 181-184.

- Segura B, Melo AI, Fleming AS, Mendoza-Garrido ME, González del Pliego M, Aguirre-Benitez EL, Hernández-Falcón J y 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. *Behavioural Brain Research*. 233: 79-89.
- Siegel GJ, Albers RW Brady ST y Price DL (2005). Myelin formation, structure and biochemistry. En: *Basic neurochemistry molecular cellular, and medical aspects*. New York. pp. 51-71.
- Stevens B, Tanner S y Fieles RD (1998). Control of myelination by specific patterns of neural impulses. *The Journal of Neuroscience*. 18: 9903-9311.
- 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. *Iatreia*. 13: 215-220.
- Tolcos M, Bateman E, O'Dowd R, Markwick R, Vrijssen K, Rehn A y Rees S (2011). Intrauterine growth restriction affects the maturation of myelin. *Experimental Neurology*. 232: 53-65.
- Vabnick I y Shrager P (1998). Ion channel redistribution and function during development of the myelinated axon. *The Journal of Neurobiology*. 37: 80-96.
- Vabnick I, Novakovic SD, Levinson SR, Schachner M y Shrager P (1996). The clustering of axonal sodium channels during development of the peripheral nervous system. *The Journal of Neuroscience*. 16: 4914-4922.

- Vabnick I, Trimmer JS, Schwarz TL, Levinson SR, Risal D y Shrager P (1999). Dynamic potassium channel distributions during axonal development prevent aberrant firing patterns. *The Journal of Neuroscience*. 19: 747-758.
- Ward G, Xing HC, Carnide N, Slivchak J y Wainwright P (2004). Adrenocortical response to stress in fasted and unfasted artificially reared 12-day-old rat pups. *Developmental Psychobiology*. 45: 245-250.
- Waxman SG, Kocsis JD y Black JA (1995). Pathophysiology of demyelinated axons in: *The Axon: Structure, Function and Pathophysiology*. Waxman SG, Kocsis JD, Stys PK (Eds.). Oxford University Press. New York. pp. 438-461
- Willis WD y Cogeshall RE (1978). *Sensory mechanisms of the spinal cord*, (New York: Plenum Press). pp. 9-128.
- Zigmond M, Bloom F, Landis S, Roberts-James y Squire L (1999). *Fundamental Neuroscience*. Academic Press. San Diego. Appleton and Lang. Norwalk, Connecticut. pp. 349-351.