

**ORGANIZACIÓN CITO-ARQUITECTÓNICA DE LA CORTEZA PRE-  
FRONTAL (PLACA CORTICAL) EN DIFERENTES REGIONES DURANTE  
EL DÍA 16 DE LA VIDA PRENATAL**

**CLAUDIA ESTELA LOPEZ CAMACHO**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA  
EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
POPAYAN  
2003**

**ORGANIZACIÓN CITO-ARQUITECTÓNICA DE LA CORTEZA PRE-  
FRONTAL (PLACA CORTICAL) EN DIFERENTES REGIONES DURANTE  
EL DÍA E16 DE LA VIDA PRENATAL**

**CLAUDIA ESTELA LOPEZ CAMACHO**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para  
optar al título de licenciado en educación con especialidad en biología**

**Director  
Mg. OSCAR HUMBERTO RIOS**

**Asesores  
Mg. Andrés Torres  
Dr. Julio Villalobos**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA  
EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
POPAYAN  
2003**

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

**Director**

---

***Magíster Oscar Humberto Ríos***  
***Docente Facultad de Ciencias de la Salud***

**Jurado**

---

***Juan Carlos Casas***  
***MD Neurólogo\_Neurofisiólogo Clínico***  
***Docente Facultad de Ciencias de la Salud***

**Jurado**

---

***José T. Beltrán***  
***Docente Departamento de Biología***  
***Universidad del Cauca***

**Popayán, Octubre de 2003**

La facultad y los jurados del trabajo, no son responsables de las ideas emitidas por el o los autores del mismo."

Artículo 24, resolución 04 de 1974

***A Dios por guiar cada una  
de las etapas de mi vida.***

***A mis padres:  
Bolívar y Olga  
por su comprensión  
Ejemplo y apoyo.***

***A mis hermanos ,y sobrinos:  
Alexandra , Alex, Viviana,Caterine,  
Jeison Michael y Laura  
Por su compañía .***

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad del Cauca coordinada por el Mg.Andrés Torres, por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.**

**Magister Oscar Ríos, por sus valiosas orientaciones, consejos recomendaciones, revisión del texto y apoyo en la dirección del trabajo.**

**Señora Graciela Muñoz, auxiliar Morfología, Universidad del Cauca, por su colaboración en los trabajos de laboratorio, sus consejos y amistad.**

**Doctora Sonia por su colaboración y permitir realizar parte del trabajo de laboratorio en la unidad de Morfología de la Universidad del Cauca.**

**Licenciada Patricia Mosquera, profesional universitario, unidad de Microscopía Electrónica por su colaboración, apoyo constante, consejos y amistad**

**A Dr. Juan Carlos Casas y Mg. José Beltrán mis jurados de tesis por sus por sus orientaciones en la corrección de la misma.**

**A mis compañeros de trabajo y amigos por sus consejos, colaboración, y compañía.**

**Finalmente quiero expresar mi gratitud a todas aquellas personas que involuntariamente omito pero que de una u otra manera me brindaron su colaboración para la realización de este trabajo.**

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
INTRODUCCIÓN	
OBJETIVOS	
PROBLEMA	
1. ANTECEDENTES	
1.1 LA CORTEZA PRE- FRONTAL	
1.2 CONEXIONES DE LA CORTEZA: AFERENCIAS Y EFERENCIAS	
1.3 DESARROLLO DE LA CORTEZA FRONTAL	
1.3.1 Zona marginal	
1.3.2 Zona intermedia	
1.3.3 Placa cortical	
1.3.4 Zona ventricular	
1.3.5 Subplaca	
1.4 TIEMPO DE ORIGEN, MIGRACIÓN Y ORGANIZACIÓN DE LA NEURONAS CORTICALES DURANTE EL DESARROLLO	
1.5 SIPNISIS EN EL DESARROLLO CORTICAL.	
1.6 EL PAPEL DE LAS AFERENCIAS - EFERENCIAS CORTICALES DURANTE EL DESARROLLO CORTICAL	
2. MATERIALES Y METODOS	
2.1 UBICACIÓN	
2.2 MATERIAL ANIMAL	
2.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA	

- 2.4            OBTENCIÓN DE ESPECÍMENES
- 2.4.1         Apareamiento



2.4.2	Sacrificio de ratones
2.5	PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA MICROSCOPIA ÓPTICA
2.6	ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS
3.	RESULTADOS
3.1	REGION ANTERIOR DE LA CORTEZA PRE-FRONTAL
3.1.1	Zona marginal
3.1.2	Placa cortical
3.1.3	Subplaca
3.1.4	Zona Intermedia
3.2	REGION MEDIA DE LA CORTEZA PRE-FRONTAL
3.2.1	Zona marginal
3.2.2	Placa cortical
3.2.3	Subplaca
3.2.4	Zona intermedia
3.3	REGION POSTERIOR DE LA CORTEZA PREFRONTAL
3.3.1	Zona marginal
3.3.2	Placa cortical
3.3.3	Subplaca
3.3.4	Zona intermedia
3.4	ANÁLISIS SEMI CUANTITATIVO DE LA ESTRUCTURA CITO- ARQUITECTONICA DE LA CORTEZA PREFRONTAL INMADURA
3.4.1	Espesor de las capas corticales según la región
3.4.2	Espesor de los estratos I y II de la placa cortical según la región
3.4.3	Tamaños celulares de los neuroblastos por capas en cada región de la corteza prefrontal
4.	DISCUSIÓN
	CONCLUSIONES
	BIBLIOGRAFÍA

## LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Protocolo para inclusión en parafina	
Tabla 2.	Espesor promedio ( $\mu\text{m}$ ) de las capas corticales	
Tabla 3.	Espesor promedio ( $\mu\text{m}$ ) de los estratos I y II de la placa cortical	
Tabla 4.	Tamaños promedio de los neuroblastos en la corteza prenatal	

## LISTA DE FIGURAS

**Pág.**

- Figura 1. Microfotografía (4x) panorámica de la región anterior
- Figura 2. Microfotografía (40x) de la zona marginal (ZM) de la región anterior
- Figura 3. Microfotografía panorámica (10x) de la región anterior
- Figura 4. Microfotografía de la placa cortical (PC) en la región anterior
- Figura 5. Microfotografía (20x) de la placa cortical (PC) y los estratos celulares en la región anterior.
- Figura 6. Microfotografía (20x) de la subplaca (SP) en la región anterior
- Figura 7. Microfotografía de la zona Intermedia (ZI)
- Figura 8. Microfotografía de la zona intermedia
- Figura 9. Microfotografía panorámica (4x) de la región media
- Figura 10. Microfotografía (40x) de la zona marginal (ZM) en la región media

- Figura 11. Microfotografía de la placa cortical (PC) en la región media
- Figura 12. Microfotografía de la subplaca (SP) en la región media de la corteza prenatal
- Figura 13. Microfotografía de la zona intermedia (ZI) en la región media
- Figura 14. Microfotografía panorámica (4x) de la región posterior
- Figura 15. Microfotografía de la zona marginal (ZM) en la región posterior
- Figura 16. Microfotografía de la región posterior con detalles de la zona marginal (ZM) y placa cortical (PC)
- Figura 17. Microfotografía de la subplaca (SP) en la región posterior
- Figura 18. Microfotografía de la zona intermedia (ZI) en la región posterior
- Figura 19. Espesor promedio en cada región de las capas de la corteza
- Figura 20. Espesor promedio de los estratos de la placa cortical en las regiones de la corteza frontal temprana
- Figura 21. Diámetro promedio de los neuroblastos en la región anterior de la corteza frontal por capas
- Figura 22. Diámetro promedio de los neuroblastos en la región media de la corteza frontal por capas
- Figura 23. Diámetro promedio de los neuroblastos en la región posterior de la corteza frontal por capas

## RESUMEN

En el presente trabajo se describe la organización cito arquitectónica de la corteza frontal del ratón durante el día 16 del desarrollo prenatal.

Cada muestra se procesó para Microscopía óptica, se realizó un análisis, cualitativo y semi- cuantitativo de la estructura de las regiones anterior, media y posterior de la corteza prefrontal .

Los datos se obtuvieron utilizando Microscopía óptica y el analizador de imágenes Leika para análisis, conteo y diámetro de neuroblastos, capas y estratos de cada una de las regiones observadas.

Los resultados muestran que en E 16 la presuntiva corteza frontal, presenta un patrón de organización por láminas (la zona marginal, la placa cortical, La subplaca y la zona intermedia). La placa cortical presenta una organización en estratos I y estrato II.

El grado de espesor en cada una de las capas de la presuntiva corteza cerebral, es diferente a esta edad del desarrollo. Los neuroblastos en cada una de las capas corticales, se presentaron en tres tamaños celulares (grandes, medianos y pequeños).

Este trabajo se realizó en los laboratorios de morfología de la Facultad de Ciencias de la Salud y Microscopía Electrónica de la Universidad del Cauca.

## ABSTRAC

In the following degree project the city- architectonic organization of the frontal bark of the mouse is described during the 16<sup>th</sup> day of the prenatal development . Each pattern was processed for optical microscopy, a qualitative and semmi – quantitative analysis of the anterior media and posterior regions of the prefrontal bark was carried out. The data was obtained by using optical Microscopy and the analyzer of images leika, for analysis , counting and diameter of neuroblasts , layers and strata of each one of the obsered regions.

The resultsshow that in E 16 the presemptive frontal presents en organization pattern by thin layers ( the marginal zone, the cortical plaquette, the sub plaquette and the intermediate zone). The cortical plaquette presents an organization with strata : stratum I and stratum II.

The degree of thickness in each one of the players of the presumptive cerebral barks in different at this development stage. The neuroblasts in each one of the cortical layers were presented in three cellular sizes (large, medium and small).

This final degree project was carried out in both the laboratories of Morphology of the Health Sciences School and Electronic Microscopy of the University of Cauca.

## INTRODUCCION

Un notable desarrollo evolutivo interno del telencéfalo o fin del cerebro es la formación de la lamina superficial de las células nerviosas llamada corteza cerebral, que tiene de 3 a 5 mm, de grosor, está formada de capas de células nerviosas íntimamente unidas con axones y dendritas.

Las células dan al tejido una coloración grisácea de donde le viene el nombre de sustancia gris cerebral. Los procesos nerviosos más especializados se localizan en esta región, y uno de los más importantes factores que determinan la capacidad de la corteza cerebral es la existencia de sus innumerables pliegues que procuran la máxima superficie posible de tejido.

En el interior de la corteza cerebral se encuentra la sustancia blanca cerebral, esencialmente compuesta de axones. La corteza cerebral es un tejido multicapídico, cada capa difiere en composición celular y a nivel de conexiones nerviosas. La organización de múltiples áreas en la corteza cerebral han sido investigadas frecuentemente en primates gato, ratón, macaco, hurón.

En todos los mamíferos, la corteza prefrontal procesa secuencias de acontecimientos y establece relaciones entre distintas actividades, es una de las



regiones del telencéfalo con funcionalidad primordial en procesos de memoria y aprendizaje.

La corteza pre-frontal dirige, en los humanos, el resto del cerebro o canaliza sus actividades hacia una función mucho más especializada: el procesamiento de símbolos y el lenguaje, constituye la región preferida para el almacenamiento de la información en los animales.

Poco se conoce de su organización cito arquitectónica, puesto que los estudios realizados en esta región durante su desarrollo prenatal mediante técnicas estructurales son escasos.

Con el estudio de embriones de ratón de 16 días de gestación se pretende conocer su cito arquitectura y organización básica que nos permita comprender su dinámica organizativa en el desarrollo temprano del cerebro.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Describir la organización cito-arquitectónica de la corteza pre-frontal en el día 16 de la vida prenatal del ratón.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Correlacionar la organización y evolución de las regiones anterior, media y posterior de la corteza prefrontal del ratón durante el día 16 de la vida prenatal
- Determinar la morfología de los neuroblastos en la corteza prefrontal temprana.
- Determinar la evolución del espesor de las capas en la corteza pre-frontal temprana.

## **PROBLEMA**

La corteza pre-frontal, es una corteza de asociación en la cual residen los centros que regulan, altas funciones como la memoria , juicio y previsión. Por otro lado es una de las regiones cerebrales más afectada por patologías tales como la enfermedad de Alzheimer y la Esquizofrenia. Tales hechos hacen que la corteza cerebral sea estudiada con gran interés

El conocimiento básico de la evolución temprana de esta región cerebral es escaso a pesar de un enorme valor funcional. Los recientes avances en la biología molecular, señalan que la neurogénesis neuronal, los procesos de migración y la posterior organización definitiva de la corteza cerebral parecen estar regulados por señales moleculares. Tales eventos ocurren en el desarrollo temprano y de hecho determinan la viabilidad funcional del sistema nervioso central, como también es importante señalarlo, sus alteraciones bien pueden contribuir en la explicación de patologías del sistema nervioso.

En este orden de ideas el estudio básico de los patrones de migración, diferenciación y organización de la corteza cerebral temprana prenatal puede contribuir al conocimiento de la biología normal de esta importante región del encéfalo.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 LA CORTEZA PRE-FRONTAL

La corteza pre-frontal ocupa una gran porción del lóbulo frontal y sufre una expansión progresiva y diferenciación citoarquitectónica en vertebrados superiores, observándose este gran desarrollo en el hombre (**Clark 1932, Rakic y col. 1982**).

En los humanos es un área extensa que se encuentra por delante del área precentral, comprende las partes más grandes de la primera, segunda y tercera circunvolución frontal, las circunvoluciones orbitarias, la mayor parte de las circunvoluciones frontal, medial y la mitad anterior de la circunvolución del cuerpo calloso (áreas 9,10,11 y 12 de Brodmann).

Un gran número de vías aferentes y eferentes unen el área pre-frontal con otras áreas de la corteza cerebral, el tálamo, el hipotálamo y el cuerpo estriado.

Las fibras protopontinas también unen esta área con el cerebelo a través de los núcleos propios del puente. Las fibras comisurales del fórceps menor y la rodilla del cuerpo calloso unen estas áreas en ambas hemisferios cerebrales. Su función básica es la de realzar la personalidad del individuo desempeñando un papel

regulador de la profundidad de los sentimientos de la persona, también ejerce su influencia en la determinación de la iniciativa y el juicio de un individuo como resultado de la entrada de la información procedente de muchas fuentes corticales y subcorticales. **(Snell, 1997).**

La corteza pre-frontal central en roedores se subdivide en 4 sub-áreas: área precentral medial, área pre-límbica, área cingular dorsal anterior y área insular.

El área precentral medial se caracteriza en el individuo adulto por presentar un patrón de organización de seis capas: capa I, II, III, V y VI. Este patrón de laminación permite diferenciar el área precentral medial de las otras áreas de la corteza pre-frontal **(Van Eden y col. 1985).**

En general se acepta que el área precentral medial es análoga al área 8 de Brodmann, basados en su cito-arquitectura y aspectos funcionales. **(Van Eden y col. 1985, Vogth y col. 1983)**

La corteza pre-frontal juega un papel esencial en las respuestas futuras de guía o de inhibición que requieren la integración temporal de acontecimientos y que proporcionan continuidad al proceso cerebral que conlleva el pensamiento. No se ha propuesto ningún mecanismo celular para explicar cómo la representación mental de una respuesta o de una idea se conecta a la siguiente. Sin embargo algunos trabajos sugieren un papel importante de la inhibición en el córtex cerebral en cuanto a la sincronización de actividades neuronales, durante el

desarrollo de operaciones cognoscitivas y de este modo formar el flujo temporal de la información.

## **1.2 CONEXIONES DE LA CORTEZA: AFERENCIAS Y EFERENCIAS**

A la corteza llegan fibras de diverso origen, los núcleos talámicos que constituyen las fibras aferentes específicas, las fibras de asociación que ponen en relación varias zonas de la corteza y un grupo de fibras que establecen conexiones directas con la formación reticular de tallo cerebral **(Bustamante 1987, Nowakowski 1999)**.

Otros estudios demuestran que las proyecciones de las áreas corticales alcanzan los núcleos talámicos **(Clasca y col. 1995)**.

En ratones las partes medial y orbital de la corteza prefrontal tiene conexiones directas con las estructuras límbicas semejantes al área CA-1 del hipocampo **(Swanson, 1981)** amígdala, **(Krattek and Price 1977 )**, los ganglios basales, el septum y el hipotálamo, refiriéndose a la corteza límbica **(Divac y col. 1978, Beckstead 1978)**. Además la corteza prefrontal recibe proyecciones dopaminérgicas del área tegmental ventral (VTA) y la sustancia negra **(Lindvall et al 1978)**. La corteza pre-frontal recibe una densa inervación colinérgica proveniente del Complejo Basal Magnocelular y principalmente del núcleo Basal Magnocelular de Meynert **(Wenk y col. 1980, Villalobos y Col, 2000)**.

### 1.3 DESARROLLO DE LA CORTEZA FRONTAL

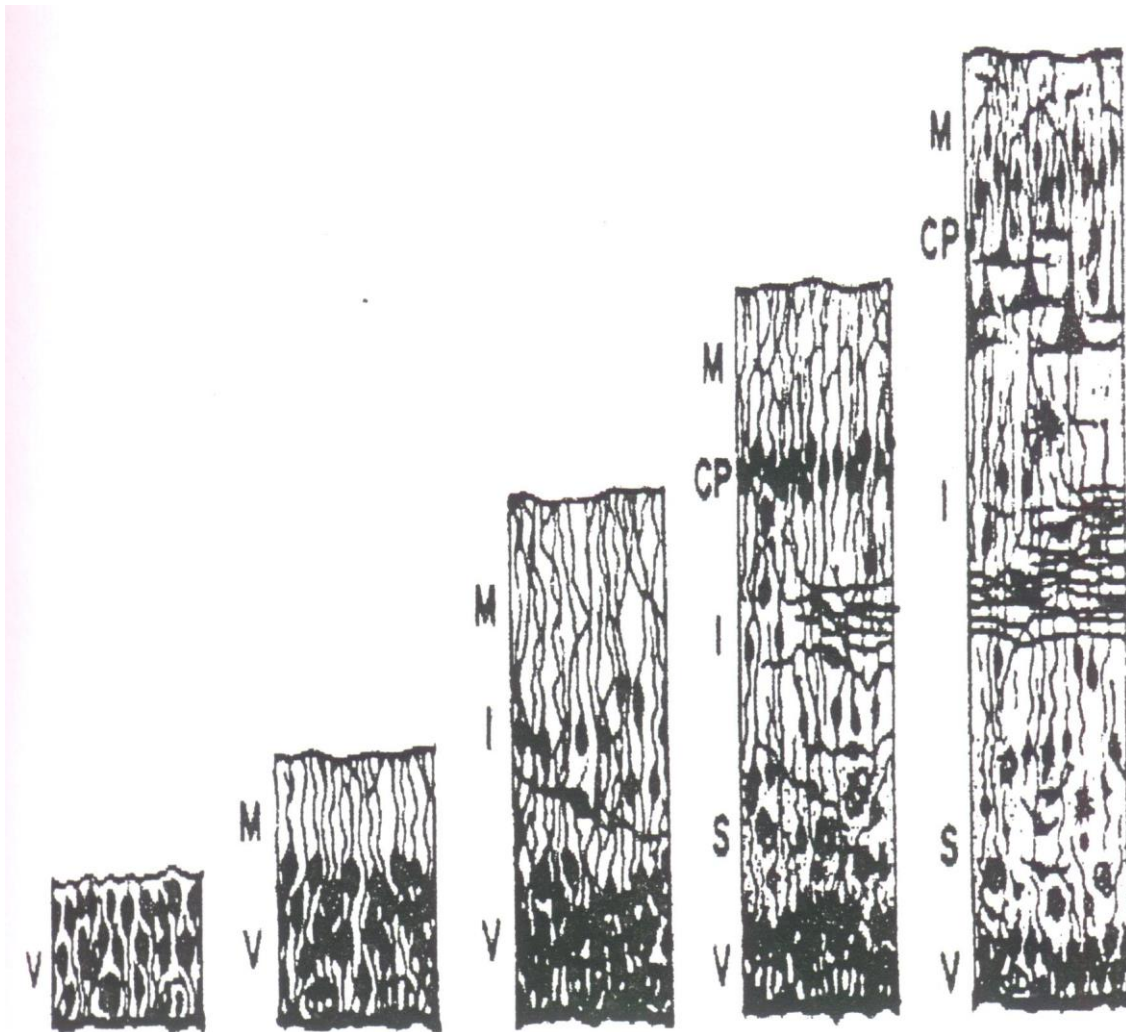
En el estado adulto, normalmente, la corteza cerebral está constituida por agregados neuronales que se organizan en forma de láminas horizontales y cuyo número de capas variará dependiendo de la región cortical que se estudie.

**(Molnar y col 1998).**

La corteza cerebral es la mayor y más compleja formación de la sustancia gris de los hemisferios cerebrales. En la embriogénesis éstos se derivan de la pared del tubo neural como una extensión de las dos vesículas telencefálicas. En el día 13 (E 13) del desarrollo prenatal del telencéfalo, la corteza cerebral pierde su homogeneidad estructural y aparece la laminación fetal; ésta se inicia con la formación del primordio plexiforme en la parte más lateral de la pared neural, en éste se encuentran las prospectivas células de Retzius - Cajal y las células polimorfas generadas entre las edades E11 y E15.**(Valverde y colaboradores 1995).**

De acuerdo con el comité de Boulder, durante el desarrollo prenatal del telencéfalo se pueden distinguir en la corteza cuatro zonas.

Estas se pueden apreciar (ver figura 1) y son de la superficie pial (externa) al lumen ventricular (interna).



**Figura 1. Esquema de las diferentes capas corticales (V) zona ventricular (M) marginal , (I) Zona Intermedia , (S) zona subventricular, (PC)Placa Cortical (Committe Boulder, 1982)**



**1.3.1 La zona marginal.** Se caracteriza por la presencia de procesos citoplasmáticos de células ventriculares (**Sauer y col, 1986**) .Esta capa solo contiene unas pocas neuronas dispersas, así como dendritas apicales y axones orientados radialmente con abundantes fibras (**Rose 1935, Vogt and Broman 1909, Von Economo 1927**) así mismo se ha podido demostrar la presencia de una población transitoria de neuronas (**Luskin y col. 1987; Chun y col 1988**) .

Las poblaciones de neuroblastos no muestran un patrón definido de organización, ya que se encuentran muy dispersos en la zona la cual es muy rica en fibras, que representan la mayor parte de la zona Marginal, los elementos vasculares son pocos y dispersos por toda la lamina. (**Mina 2002**)

**1.3.2 La Zona Intermedia.** Se ubica entre la zona marginal y ventricular (**Smart, I.H.1985**). Esta zona se desarrolla como resultado de la invasión de axones subcorticales y la migración de las células hacia la placa cortical.

**1.3.3 La placa Cortical.** Se encuentra entre la zona marginal y la zona intermedia. Otros autores la ubican entre la zona marginal y la subplaca (**Van Eden and Uylings 1985**). Experimenta una diferenciación progresiva hasta formar una capa definitiva dentro de la corteza la cual se ubica entre la zona marginal e intermedia. (**Jacobson, 1989**). Estudios realizados en el conocimiento de la formación de esta zona demuestran que la migración de neuroblastos desde la zona ventricular influye en la formación de la placa cortical (**Tamamaki, Fujimori, Takauji 1997**) .

Mina (2002) describió en la placa cortical cuatro estratos (I, II, III, IV) dispuestos de superficie a profundidad. El estrato 1 corresponde al estrato más superficial de la placa cortical y limita con la zona marginal; el estrato 4 corresponde al estrato más profundo de la placa cortical y limita con la Subplaca.

**1.3.4 La zona ventricular.** Constituida por epitelio pseudoestratificado caracterizado por la presencia de células germinales, es la primera zona que aparece durante el desarrollo prenatal, dando origen a los neuroblastos que finalmente constituirán los distintos tipos de neuronas de la corteza cerebral durante el desarrollo pre y postnatal (**Rakic 1974**).

**1.3.5 La subplaca.** Zona conformada por abundantes fibras y baja densidad celular, con oblacones de neuronas que sufren un proceso migratorio hacia otras zonas principalmente a la placa cortical, en un sentido que se presume es in - out (interno -externo) (**Angevine y col 1961**).

Otros autores por su parte demuestran que la subplaca contiene durante su desarrollo postnatal una población transitoria de neuronas (**Chanchi 1997, Chun y col 1988, Mina 2002**).

**Marin – Padilla (1998)**, propone a partir del estudio del desarrollo de la corteza cerebral humana, que la capa I y la subplaca evolucionan primero de la capa plexiforme primordial. Esta característica morfológica es común a los anfibios, reptiles y mamíferos. La laminación en múltiples capas que se observa en la

corteza de los mamíferos evoluciona más tardíamente a partir de la aparición de la placa cortical entre la capa I y la subplaca.

#### **1.4 TIEMPOS DE ORIGEN, MIGRACIÓN, Y ORGANIZACIÓN DE LAS NEURONAS CORTICALES DURANTE EL DESARROLLO**

La corteza cerebral es un tejido multicapídico, cada capa difiere en su composición celular y conexiones (**R. Beau Lotto y col**).

La corteza cerebral de los mamíferos está dividida dentro de su funcionalidad en distintas áreas, algunos patrones radiales de migración neuronal se piensa fueron esenciales para moldear estas áreas, la observación directa de migración celular en regiones corticales del cerebro han revelado que las células siguen vías radiales y no radiales y que ellas tienen un sitio de origen fuera en la zona ventricular hasta su destino en la placa cortical. (**Mc Connell 1992**)

**Valverde y col (1995)**, describen en el desarrollo prenatal de la corteza, que las primeras neuronas post mitóticas se establecen superficialmente en la zona ventricular, en la preplaca por E12; además observaron figuras mitóticas en la preplaca de E12 y E13 y se considera un posible nacimiento de neuronas corticales externas en la zona ventricular, ellos sugieren entonces que estas células pueden corresponder a las células de Cajal Retzius.

Estudios en la zona ventricular mediante técnicas autorradiográficas con timidina tritiada, han revelado el origen y posterior migración de los neuroblastos; en embriones de ratón E11 a E 17 de gestación al ser inyectados y examinados una hora después, sólo marcaron las células cercanas al ventrículo, en el cerebro anterior del embrión; en embriones inyectados el mismo día de la gestación (E 11 a E 17) y sacrificados 10 días después del nacimiento mostraron que las células marcadas se localizaban en la materia gris de la corteza cerebral; se demuestra así que las células se generan en la zona ventricular y migran hacia la superficie pial, para conformar la placa cortical que posteriormente constituirá la Corteza madura. **(Rakic 1984).**

Durante la migración de los neuroblastos para construir la placa cortical, las células más recientemente formadas migran a través de aquellas que ya están situadas en la placa para situarse a un nivel más superficial, este patrón de migración es conocido como “inside – out”(de adentro hacia fuera). Así, a partir de la zona Ventricular surgirán: la placa cortical, la subplaca y la zona intermedia completando 6 zonas citoarquitectónicas que constituirán la corteza cerebral. **(idem).**

Las secuencias de migración también han sido reportadas por **Hicks y D'mato (1978)** en embriones de ratón y posteriormente por **Rakic (1984)** en estudios de la corteza visual de mono Rhesus.

## 1.5 SINAPSIS EN EL DESARROLLO CORTICAL

La formación de sinapsis es el más importante paso en la diferenciación y el establecimiento de circuitos neuronales.

Un evento del desarrollo cortical determinante de los procesos de la diferenciación y preparación para las exigencias funcionales de la corteza cerebral es la sinaptogénesis. Algunos estudios de actividad sináptica indican que esta se observa primero en la capa plexiforme primordial (zona marginal) y en ambas paredes cerebrales lateral y medial, antes de la formación de la placa cortical y se incrementa paulatinamente, de igual manera en la corteza occipital y lateral. **(N Zecevic 1998).**

El establecimiento de las primeras sinapsis en el desarrollo de la neocorteza se ha estudiado en la corteza sensorial del feto de rata entre el día E12 y P0 del desarrollo prenatal. **(Balslev y col 1996)**

Por E14 se encontraron sinapsis con espesamiento post-sináptico y varias vesículas que contenían elementos presinápticos en la capa primordio plexiforme, antes de la aparición de la capa cortical, los elementos post-sinápticos fueron probablemente dendritas de las células de Cajal –Retzius en la capa de primordio plexiforme y dendritas diferenciándose de las neuronas de la presuntiva placa cortical.

Para E 16, en adición a la presencia de sinapsis axodendríticas y muy pocas sinapsis axosomáticas en la zona marginal y la subplaca, sinapsis de ambos tipos se encontraron en la placa cortical; esto es una evidencia de la presencia de sinapsis en el desarrollo temprano del cerebro de rata. **(Balslev y col. 1996)**.

En humanos la sinaptogénesis ocurre frecuentemente con crecimiento axonal y dendrítico, con mielinización de la materia blanca subcortical. Una fase de red de eliminación sináptica ocurre tardíamente en la infancia, más tempranamente en la corteza auditiva donde esta finaliza cerca de los 12 años, no ocurre lo mismo en la corteza prefrontal que se extiende hasta la mitad de la adolescencia. **(Huttenlocher y col. 1997)**.

## **1.6 EL PAPEL DE LAS AFERENCIAS Y EFERENCIAS CORTICALES DURANTE EL DESARROLLO CORTICAL**

En el desarrollo pre y postnatal de la corteza cerebral juegan un papel importante en la maduración cortical, la entrada de fibras de origen cortico – cortical y subcortical.

Estas últimas provienen entre otras regiones del tálamo, se conocen con el nombre de proyecciones tálamo- corticales, estas proyecciones alcanzan en el ratón la corteza entre los días E 13 y E18 del desarrollo prenatal **(López-Bendito y col. 2003)**.

En la rata se ha demostrado que las interacciones celulares pueden determinar las relaciones tálamo corticales. En el día embrionario E14 grupos de neuronas en el diencéfalo, ventral, dorsal y fibras talámicas pasan en orden topográfico entre ellos. Así mismo temprana y simultáneamente axones en la subplaca, la zona marginal (la preplaca cortical original) establecen un orden de ocupación de la zona intermedia. **(Molnar y col. 1998)**

En la rata para el día 16 embrionario aferentes talamocorticales alcanzan la neocorteza y cursan tangencialmente desde la zona intermedia inmediatamente bajo la placa cortical. Para E 17 las fibras talamocorticales han iniciado su progresión radial creciendo dentro de la corteza y se extienden a una zona poco densa de células entre la capa IV b y el espesor de la placa cortical; para P0 las fibras talamocorticales desde un denso plexo entre las capas VI y V alcanzan la placa cortical. Estas observaciones indican que en la rata los aferentes talámicos llegan a la corteza a una muy temprana edad e invaden de manera progresiva la placa cortical con un aparente período de “espera”. **(Catalano y col. 1991)**

La corteza cerebral en su desarrollo postnatal posee tres clases de fibras. Fibras aferentes cuyos axones tálamo-corticales terminan primeramente en la capa VI. Circuitos locales, representados por interneuronas con proyecciones de células piramidales u otras clases de interneuronas y fibras eferentes constituidas por grupos de axones, cuyos axones corti-corticales y axones de proyección que se dirigen a las diferentes áreas subcorticales. **(Nowakowski 1999, Creutzfeldt 1995, Walker 1938)**. Las conexiones aferentes de la neocorteza se desarrollan

simultáneamente hacia el final de la embriogénesis; para el caso de las proyecciones tálamo-corticales algunas inervan temporalmente la Subplaca antes de salir para localizarse finalmente en la placa cortical (**Price, Lotto 1996**). En fetos de monos el desarrollo de las conexiones talámicas-corticales se han identificado en tres fases. La primera los axones entran al lóbulo occipital y se distribuyen por compartimentos; en la segunda fase los axones entran a la corteza pero al final se distribuyen en la capa IV de diferentes maneras; en la fase tres los axones se han segregados en territorios definidos dentro de la capa IV (**Rakic 1977**).

Finalmente es importante mencionar que los procesos de la diferenciación cortical , tales como la laminación y organización final de la estructura está determinada por la presencia de factores intrínsecos y extrínsecos . Los factores intrínsecos se localizan en la corteza propiamente dicha y están representados entre otros por factores genéticos y difusibles que determinan la arealización y laminación cortical propiamente dicha. (**López- Bendo y col 2003; Boncinelli 2000**)

Son considerados como factores extrínsecos las aferencias corticales provenientes del tálamo entre otros y que tendrán el papel fundamental de refinar la conectividad y organización final de la corteza cerebral. (**López- Bendo y col 2003.**)



## **2. MATERIALES Y METODOS**

### **2.1 UBICACIÓN**

El trabajo de tesis se llevó a cabo en la Unidad de Microscopía Electrónica ubicado en la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Cauca,

### **2.2 MATERIAL ANIMAL**

Se estudiaron embriones de ratones jóvenes exocriados ICR (*Mus musculus*) de 16 días, de vida fetal.

### **2.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA**

La muestra estuvo constituida por un número de 10 animales por edad (E16), determinada por embriones de la edad prenatal estudiada.

### **2.4 OBTENCION DE ESPECIMENES**

**2.4.1 Apareamiento.** Se colocó en una caja metálica, un ratón macho y tres hembras por un lapso de tres horas, hasta determinar por la presencia del tapón

vaginal, el positivo apareamiento, se llevó posteriormente su registro correspondiente hasta el momento de su sacrificio.

**2.4.2 Sacrificio de ratones.** Para este se anestesiaron las ratas con pentobarbital sódico por vía intra-peritoneal ,se hizo laparotomía mediana y se expusieron los cuernos uterinos extrayendo los embriones y profundizándolos luego por vía intracardiaca con tirodes (7,4) y Karnosky 1% (paraformaldehido 1%,y glutaraldehido 1%). Una vez que se perfundieron se decapitaron y postfijaron en Karnosky por 48 horas a 4 grados centígrados. Los cerebros que se obtuvieron se procesaron, este procesamiento tuvo como fin la obtención de la corteza pre-frontal para luego incluir el material en parafina y ser luego observados en microscopia óptica.

**2.4.3 Procesamiento de muestras.** Para cumplir con los objetivos estipulados en el trabajo se utilizó microscopía óptica. Para las observaciones se seccionó el cerebro del animal, con el fin de obtener la corteza prefrontal. Posteriormente las muestras obtenidas se incluyeron en parafina .(Ver tabla Número 1).

**2.4.4 Corte de muestras.** Se hicieron cortes semifinos (10 micras) los cuales fueron teñidos con Violeta de Cresil, contrastados con eosina para observar al microscopio óptico. Este proceso se llevó a cabo en el laboratorio del departamento de morfología de la facultad de ciencias de la salud.

**2.4.5 Análisis de los resultados.** La descripción realizada se hizo con base en una división a la presuntiva corteza prefrontal en tres regiones : anterior, media y posterior, para esta división , utilizamos como referencia el cuerpo calloso. Las regiones localizadas por delante de la rodilla del cuerpo calloso, corresponde a la región anterior. Las regiones localizadas por detrás de la zona del cuerpo calloso, corresponde a la región media , finalmente la región posterior, corresponde a las regiones localizadas por detrás de la comisura blanca anterior. Esta nos permitió realizar el estudio cuantitativo y estructural de cada una de las capas que forman estas regiones, así mismo observar la disposición de los neuroblastos presentes en cada una de la zonas , su diámetro el cual nos permitió clasificar en grandes, medianos y pequeños .

Estos datos se obtuvieron utilizando el microscopio de luz de la unidad de microscopía Electrónica marca Nikon CFW 15 X en aumentos de 4x, 20x y 40 x. Se utilizó el analizador de imágenes LEIKA Q550IW para análisis , conteo y diámetros de neuroblastos de cada una de las regiones , capas .y estratos observados.

**Tabla 1. Protocolo de inclusión en parafina**

<b>PASO</b>	<b>SUSTANCIA QUÍMICA</b>	<b>NUMERO DE VECES</b>	<b>TIEMPO HORAS</b>
FIJACIÓN	FAA(Alcohol 3:3:1)	1	
DESHIDRATACION	Alcohol 50%	1	2
	Alcohol 60%	1	2
	Alcohol 70%	1	2
	Alcohol 80%	1	2
	Alcohol 85%	1	2
	Alcohol 90%	1	2
	Alcohol 100%	1	2
	Xilol - Alcohol 1:1	1	2
	Xilol	1	2
IMBIBICION	Parafina	1	12
INCLUSION	Parafina		

Tomado de manual de micro técnicas de la profesora Luz Stella Hoyos Giraldo. Universidad del Cauca. Facultad de Educación. Departamento de Biología. Popayán 1985. En el cual no se referencian fuentes.

### 3. RESULTADOS

Para realizar la observación en microscopía de luz de la corteza pre-frontal del ratón, se dividió la corteza en tres regiones: anterior, media y posterior.

Cabe anotar que cada una de estas regiones presenta una organización celular, procesos de migración, fibras y elementos vasculares que los diferencian unos de otros. Por otro lado, indistintamente de la región siempre fue posible observar un patrón básico de organización de superficie a profundidad así: La zona marginal, la placa cortical, la subplaca, y la zona intermedia.

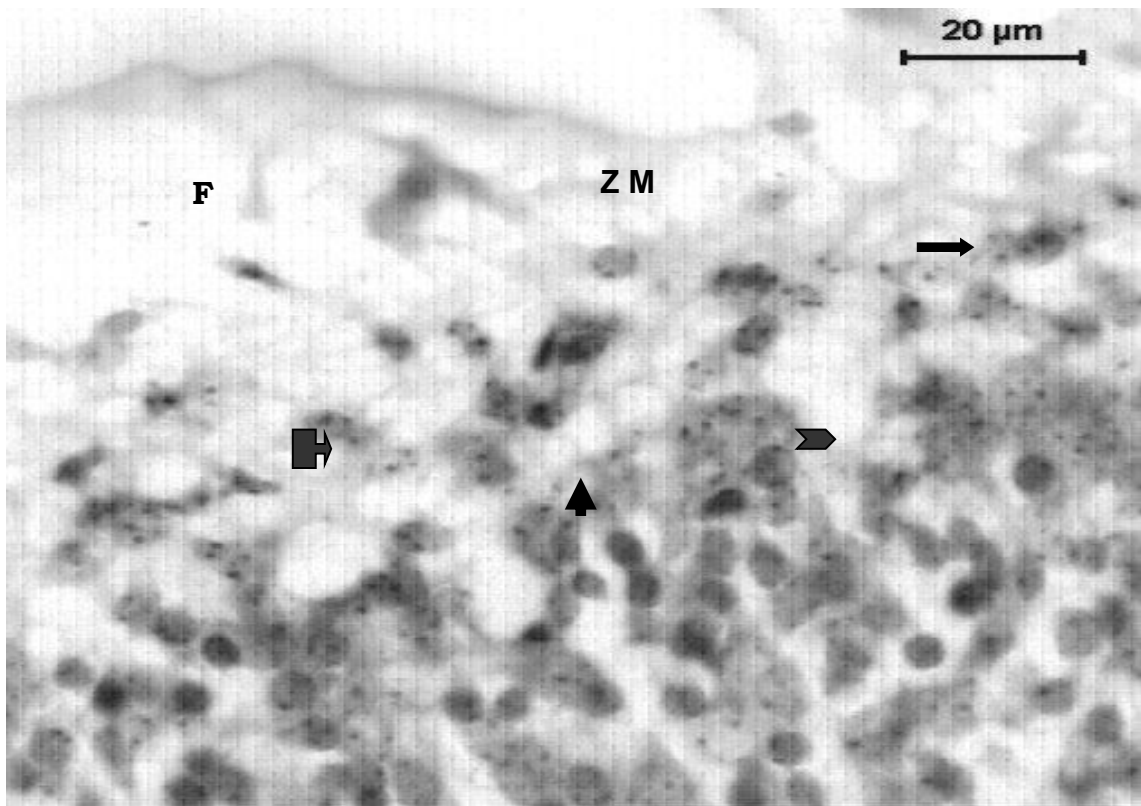
#### 3.1 REGION ANTERIOR

En ella se observan las cuatro capas básicas de organización de la corteza inmadura, las cuales se disponen de superficie a profundidad así: zona marginal, placa cortical, subplaca, y zona intermedia (ver Fig 1)

**3.1.1 Zona marginal.** Limita superficialmente con la pía madre y profundamente con la placa cortical. Presenta una población celular escasa y dispersa. Los neuroblastos que presenta se clasifican según su tamaño en grandes (23,06 $\mu$ m) medianos (17,25  $\mu$ m) y pequeños (14,3 $\mu$ m) (ver Figura 2).



**Figura 1: Microfotografía panorámica (4x) de la región anterior; se observan las cuatro capas básicas de organización de la corteza inmadura, dispuestas de superficie a profundidad: Zona Marginal (ZM), placa cortical (PC) subplaca (SP) ) y la zona intermedia (ZI). Se observa el Ventrículo lateral (VI).**



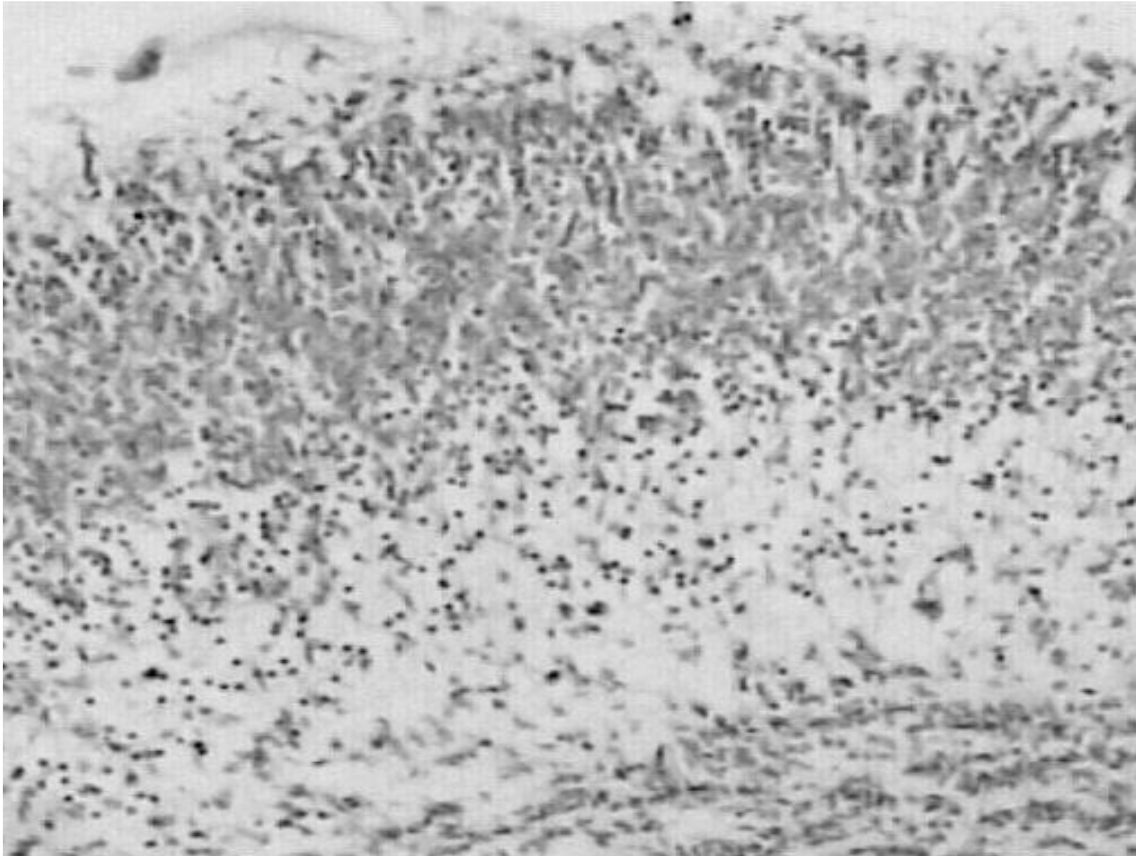
**Figura 2: Microfotografía (40x) de la región anterior de la corteza prefrontal del ratón a E16. Se observa la Zona Marginal (ZM), y los neuroblastos clasificados en tres tamaños: grandes( →), medianos ( ➤ ) y pequeños( ➡ ).**

La morfología predominante es ovalada, aunque se pueden observar neuroblastos de formas irregulares y polinucleolados. Es posible determinar por la coloración de sus neuroblastos una gran afinidad al colorante. En la región anterior esta capa se caracteriza por presentar abundante número de fibras nerviosas y vasos vasculares; su espesor promedio es de 29,65  $\mu\text{m}$ . (ver Figura 2)

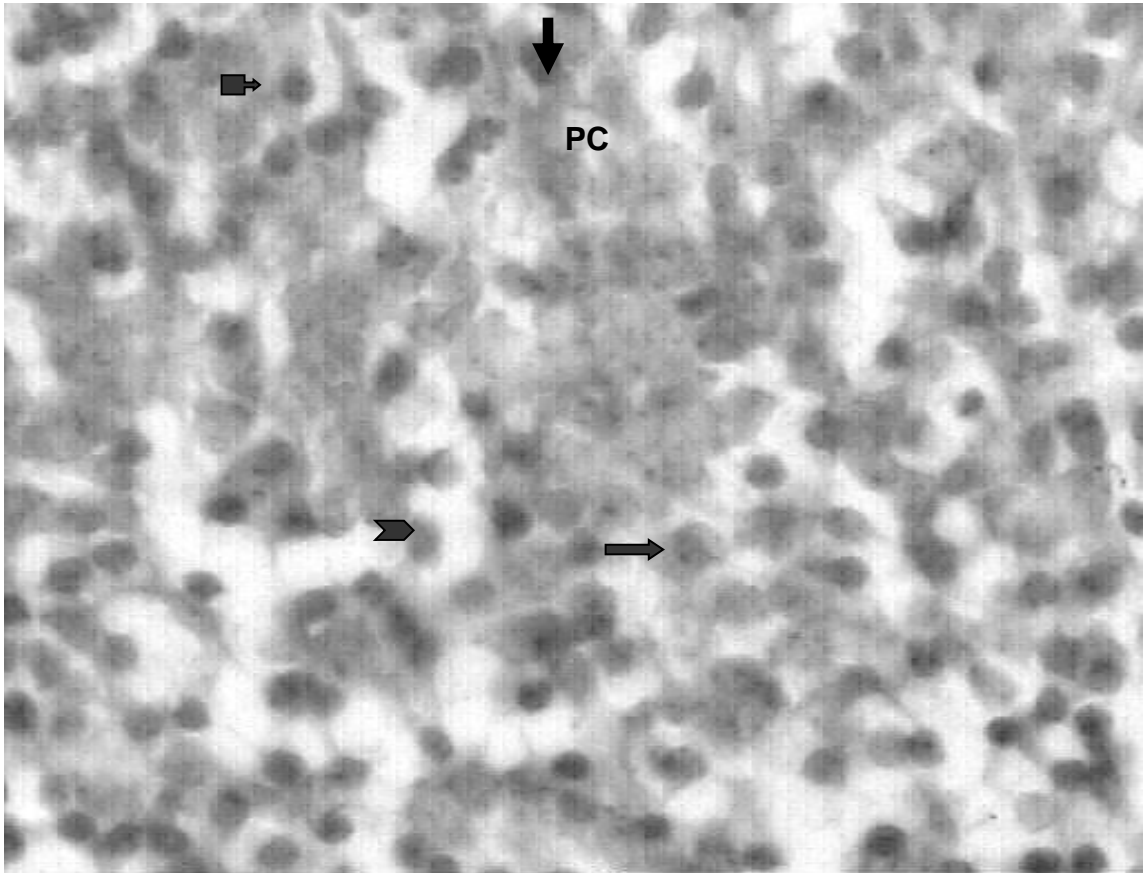
**3.1.2 Placa cortical.** Limita superficialmente con la zona marginal y profundamente con la subplaca.

Esta zona se caracteriza por el abundante número de células estrechamente empaquetadas, morfológicamente esféricas. Independientemente del estrato se observaron células de tamaños: grandes (19,44 $\mu$ ), medianas (15,48 $\mu$ ) y pequeñas (13,50 $\mu$ ) polinucleolados (3 a 5 nucleólos) (ver Figura 4). Su tinción permite diferenciar 2 estratos: **estrato I** hacia la zona superficial de la placa cortical, con células intensamente teñidas, y el **estrato II**, localizado hacia las regiones profundas de la placa, se destaca la coloración menos intensa de sus neuroblastos con presencia de fibras (ver Figura 5), presenta un espesor promedio de 131,72.  $\mu\text{m}$  (ver Figura 3).





**Figura 3: Microfotografía panorámica (10 x )de la región anterior de la corteza pre-frontal del ratón a E16 . Se observa la Zona Marginal (ZM), la placa cortical(PC subplaca (SP ), y la . zona intermedia (ZI) ; La tinción de los neuroblastos en la placa cortical permite diferenciar dos estratos celulares : estrato I (Esl) y estrato II (EslI).**



**Figura 4:** En la microfotografía (40x) se observan los neuroblastos estrechamente empaquetados de la placa cortical (PC) en la región, los cuales presentan tres tamaños celulares: grandes( ➡ ), medianos ( ➡ ) y pequeños( ➡ ).

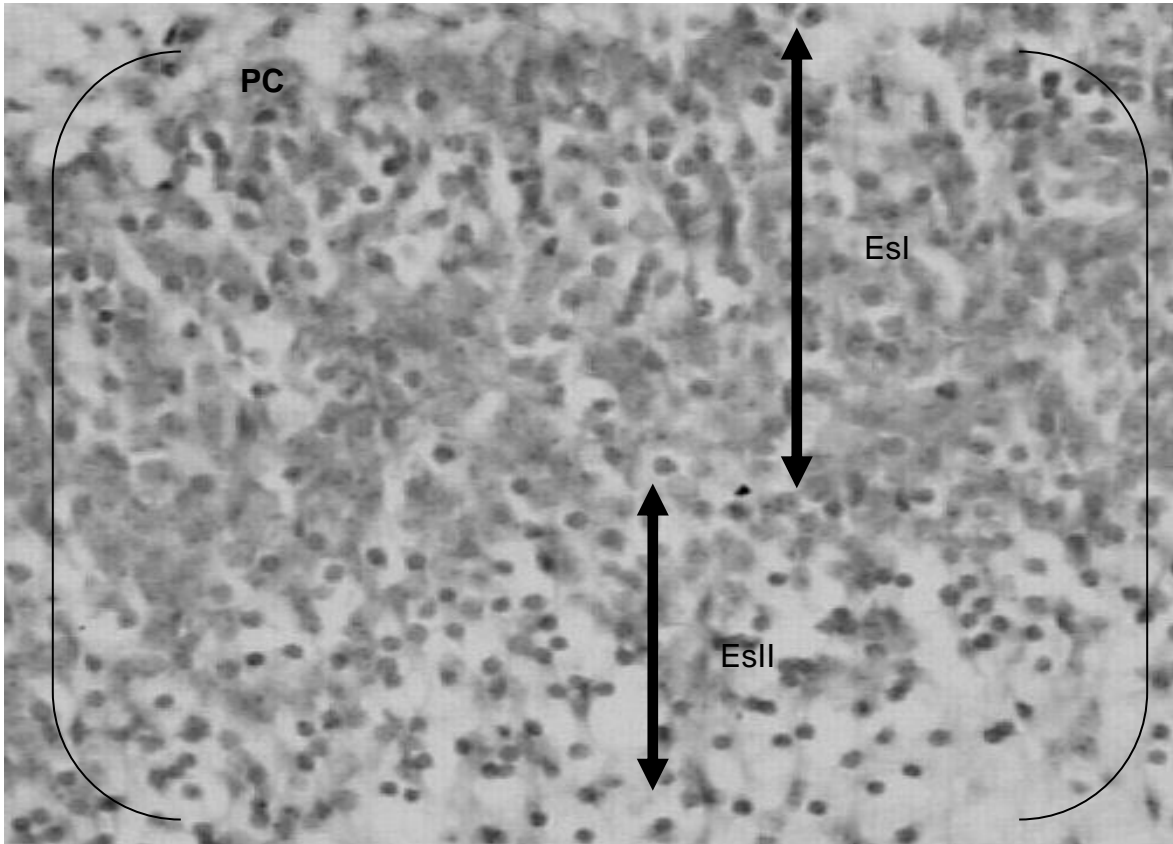
- **Estrato I**

Formado por agregados celulares estrechamente empaquetados y cuya morfología predominante es la ovalada. Su afinidad por el colorante es alta. Presenta un espesor promedio de 69,65  $\mu\text{m}$  (ver Figura 5)

- **Estrato II**

Su espesor promedio es de 68,11  $\mu\text{m}$ ; se observa en sus células una coloración pálida indicativo de una menor afinidad por el colorante, sus células se disponen de manera más dispersas que las del estrato I (ver Figura 5)

**3.1.3 Subplaca.** Limita superficialmente con la placa cortical y profundamente con la zona intermedia. ( Ver Figura 1) En esta zona los neuroblastos se encuentran dispersos y su morfología es ovalada. Sus células están ligeramente teñidas y rodeadas de abundantes fibras (ver Figura 6). Se diferencian tres tamaños celulares: grandes (20,69 $\mu\text{m}$ ), medianos, (16,09 $\mu\text{m}$ ) y pequeños (13,69 $\mu\text{m}$ ). (Ver Figura 6), son polinucleolares (3 a 10 nucleólos), el espesor promedio de la subplaca es de 155, 78  $\mu\text{m}$ .



**Figura 5: Microfotografía(20x) de la región anterior de la corteza prefrontal del ratón a E16. Se observa que en la placa cortical (PC) La coloración de los neuroblastos en esta zona permite diferenciar dos estratos celulares: estrato I (Esl) células intensamente teñidas y estrato II (EsII) células con menor afinidad por el colorante y más dispersas.**

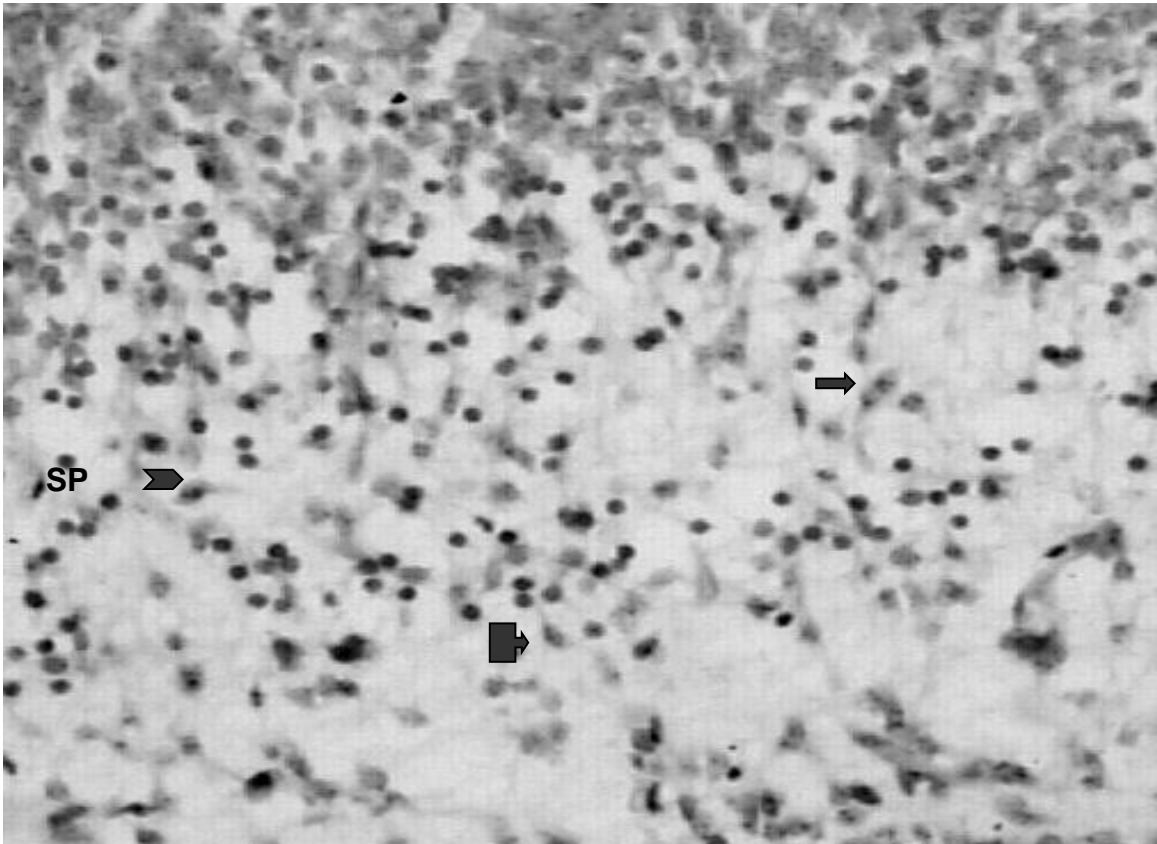





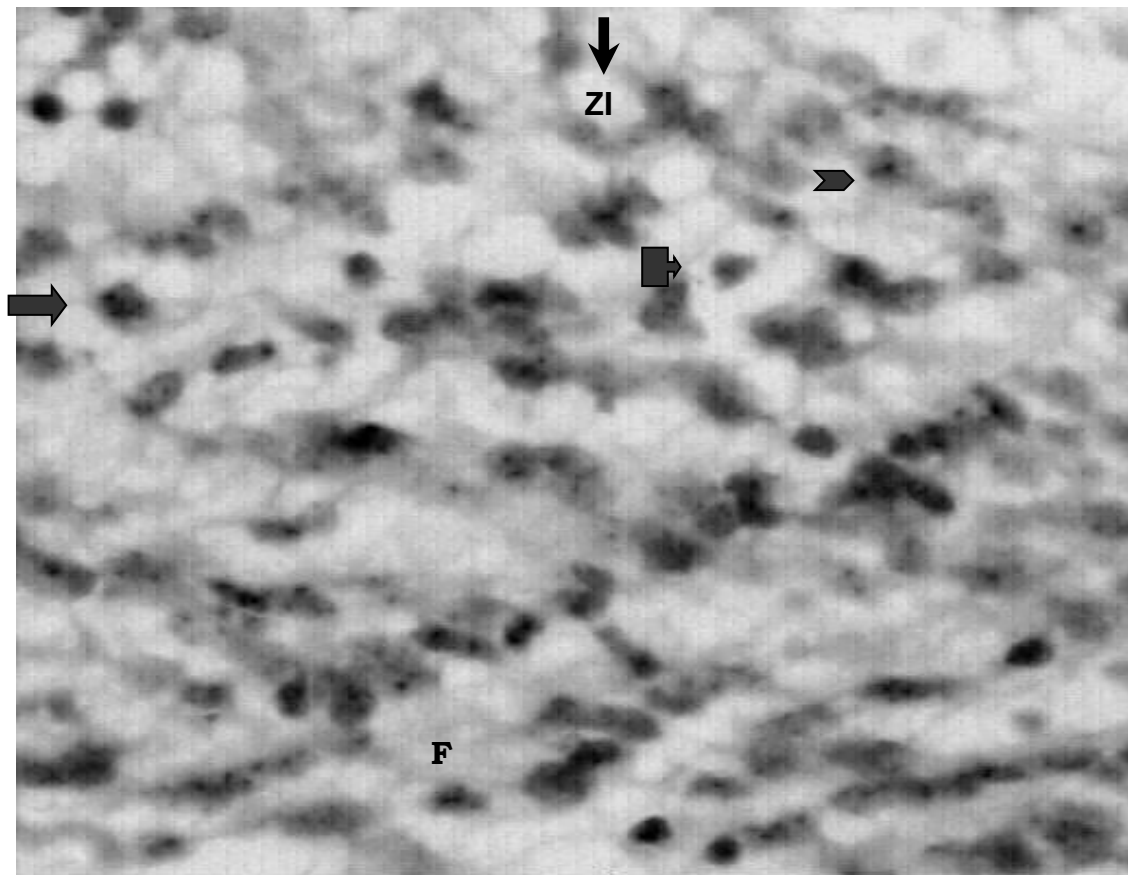
Figura 6: Microfotografía (20x) de la subplaca en la región anterior de la corteza pre-frontal del ratón a E16. Se observa la subplaca (SP) con sus células ligeramente teñidas, rodeadas por fibras y diferenciadas en tres tamaños celulares: grandes (  ) medianos (  ) y pequeño (  ).




**3.1.3. Zona intermedia.** Superficialmente se extiende desde la subplaca y profundamente limita con la zona subventricular. (ver Figura 1)

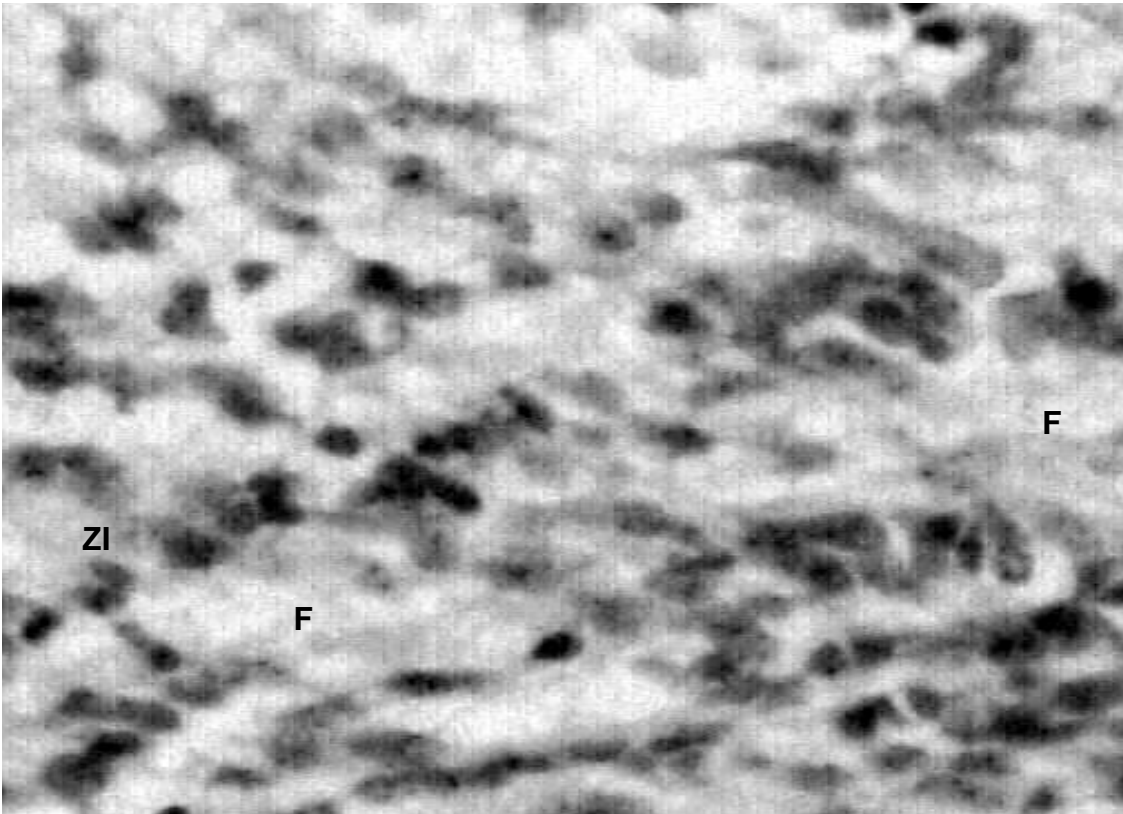
Sus células se encuentran dispersas. Los neuroblastos están escasamente teñidos, su morfología es alargada y se observa una disposición tangencial con relación a la superficie pial, con presencia de fibras.(ver figura 7) Se determinó la presencia de células de tamaños grandes(35,25 $\mu$ m), medianos (21,62 $\mu$ m) y pequeños (14,81 $\mu$ m)(ver figura 8). El espesor promedio de la zona Intermedia a este nivel es de 128,50  $\mu$ m.

## **3.2 REGIÓN MEDIA**

En esta zona al igual que en la zona anterior, la disposición de sus células permite diferenciar 4 capas: la Zona marginal, la placa cortical, la subplaca y la zona intermedia. (ver Figura 9)



**Figura 7: Microfotografía (40x) de la Zona Intermedia (ZI ) en la región anterior de la corteza pre-frontal inmadura (E16). Se observan sus células dispersas, rodeadas por fibras, escasamente teñidas y diferenciadas en tres tamaños celulares: grandes ( ) , medianos ( ) y pequeños ( ) .**



**Figura 8: Microfotografía (40x) en la región anterior en la cual se observa la Zona Intermedia (ZI). Se destaca la disposición tangencial de sus neuroblastos con relación a la superficie pial, además de gran número de fibras(F).**

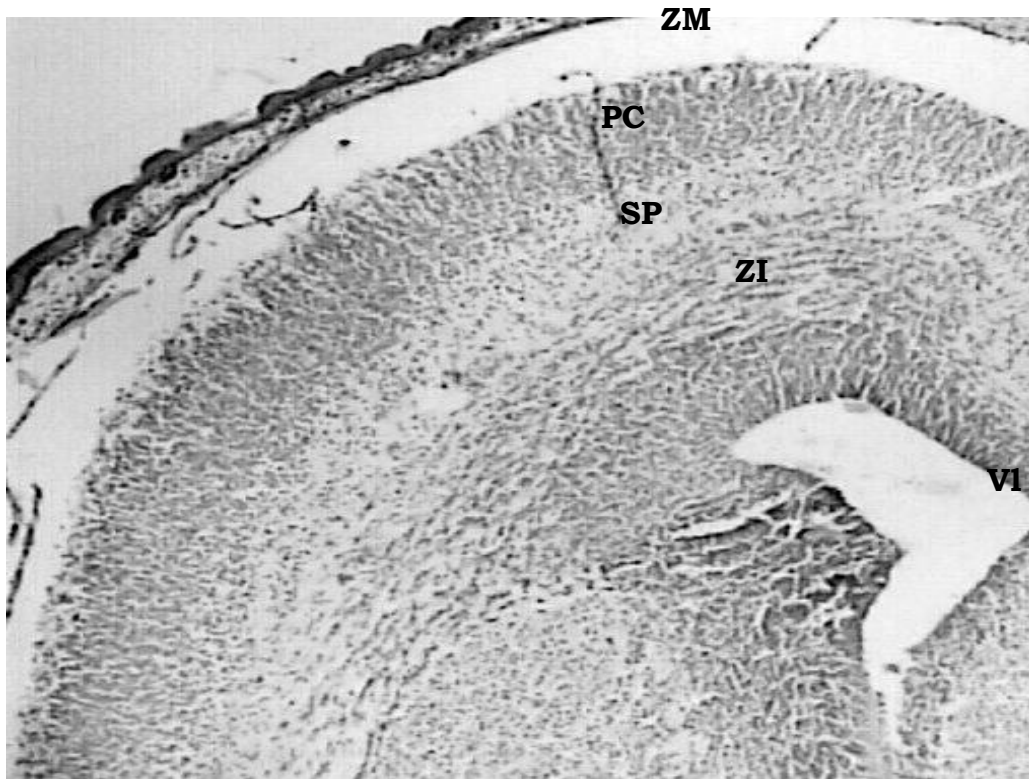


**3.2.1 Zona marginal.** Las células están dispersas y son escasas, al igual que en la región anterior su morfología es ovalada y son polinucleolados, se describen tres tamaños celulares: grandes(18,13  $\mu\text{m}$ ), medianas (13,04 $\mu\text{m}$ ), y pequeñas(10,50 $\mu\text{m}$ ). Los neuroblastos están intensamente teñidos.

Esta zona se caracteriza por presentar abundante número de fibras, y vasos vasculares., Su espesor promedio es de 33, 58  $\mu\text{m}$ . (ver figura 10)

**3.2.2 Placa cortical.** La placa cortical limita superficialmente con la zona marginal y profundamente con la subplaca. (Ver figura 9) Esta zona se caracteriza porque sus células están empaquetadas, son redondeadas aunque se pueden observar neuroblastos de formas irregulares con tamaños celulares: grandes (21,63 $\mu\text{m}$ ) , medianos (15,87 $\mu\text{m}$ ) y pequeños (13,00 $\mu\text{m}$ )(ver figura 11)

De acuerdo por su afinidad por el colorante, identificamos dos estratos; superficial con células intensamente teñidas y profundo con células levemente teñidas. Esto corresponde a los estratos I y II descritos en la región anterior. La placa cortical presenta un espesor promedio de 121,61 $\mu\text{m}$



**Figura 9: Microfotografía panorámica (4x) de la región media, se observan las cuatro capas básicas de organización de la corteza inmadura, dispuestas de superficie a profundidad: Zona Marginal (ZM), placa cortical (PC) subplaca (SP ) y la zona intermedia (ZI).**

**Ventrículo lateral (VI).**

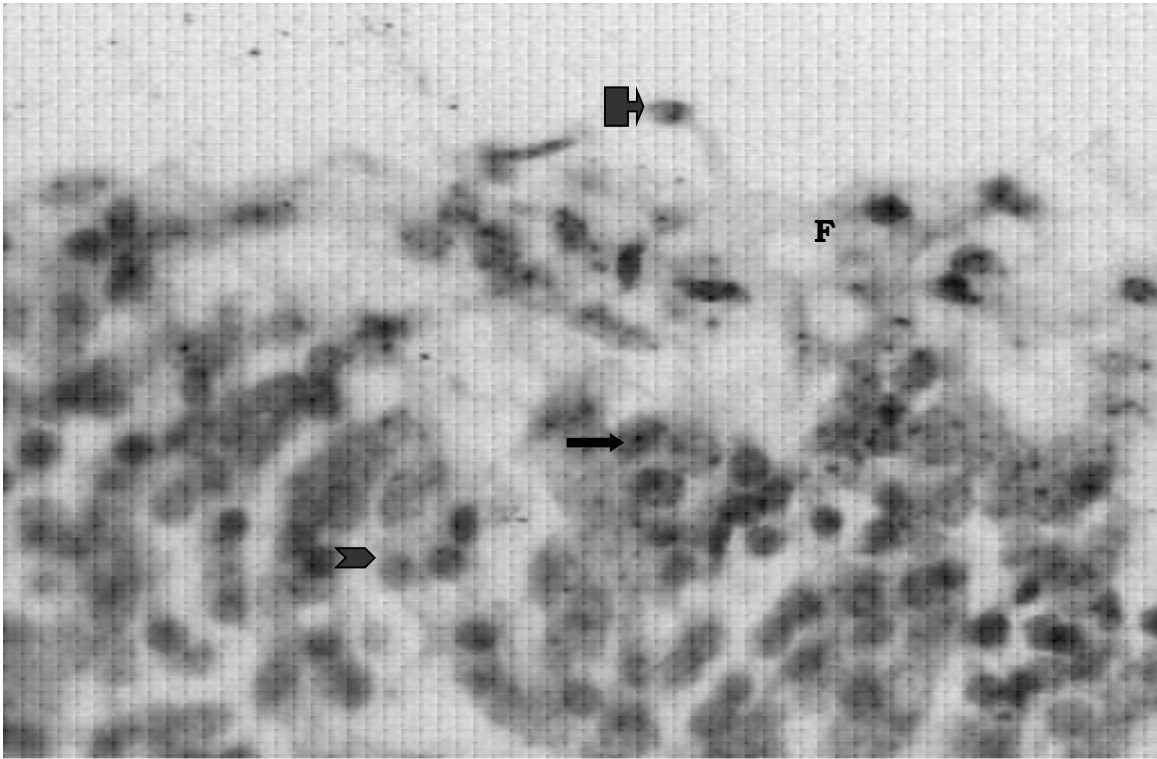





Figura 10: Microfotografía (40x) de la Zona Marginal (ZM) en la región media de la corteza inmadura. Sus células están dispersas, su morfología es ovalada y se describen tres tamaños celulares: grande (  ), medianos (  ) pequeños (  ).

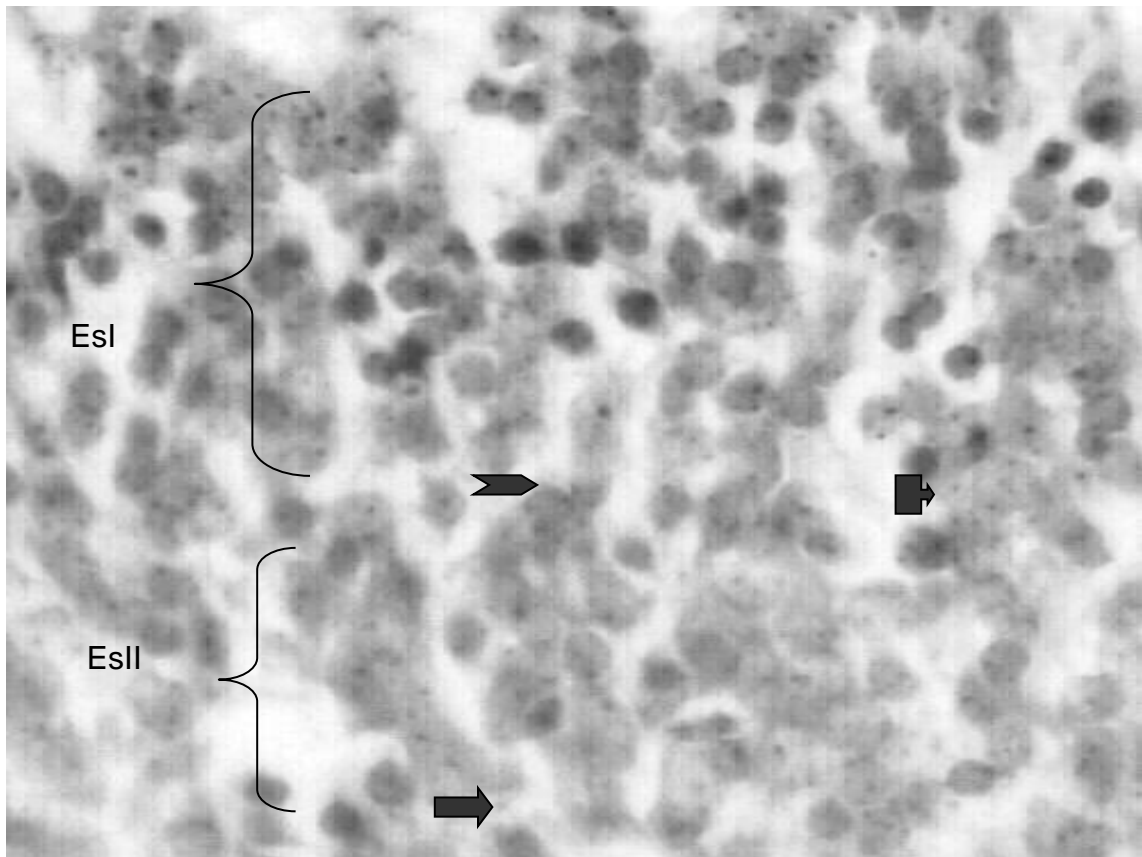
- **Estrato I**




Los neuroblastos presentes en esta zona están estrechamente empaquetados. Su morfología predominante es la ovalada. La tinción de sus células permite observar una alta afinidad por el colorante, Presenta un espesor promedio de 80,93µm

- **Estrato II**

En esta zona los neuroblastos se presentan dispersos y polinucleolados. Sus células son morfológicamente redondeadas y es evidente su afinidad escasa por el colorante. El espesor promedio de este estrato es de 41, 63µm (ver figura 11)

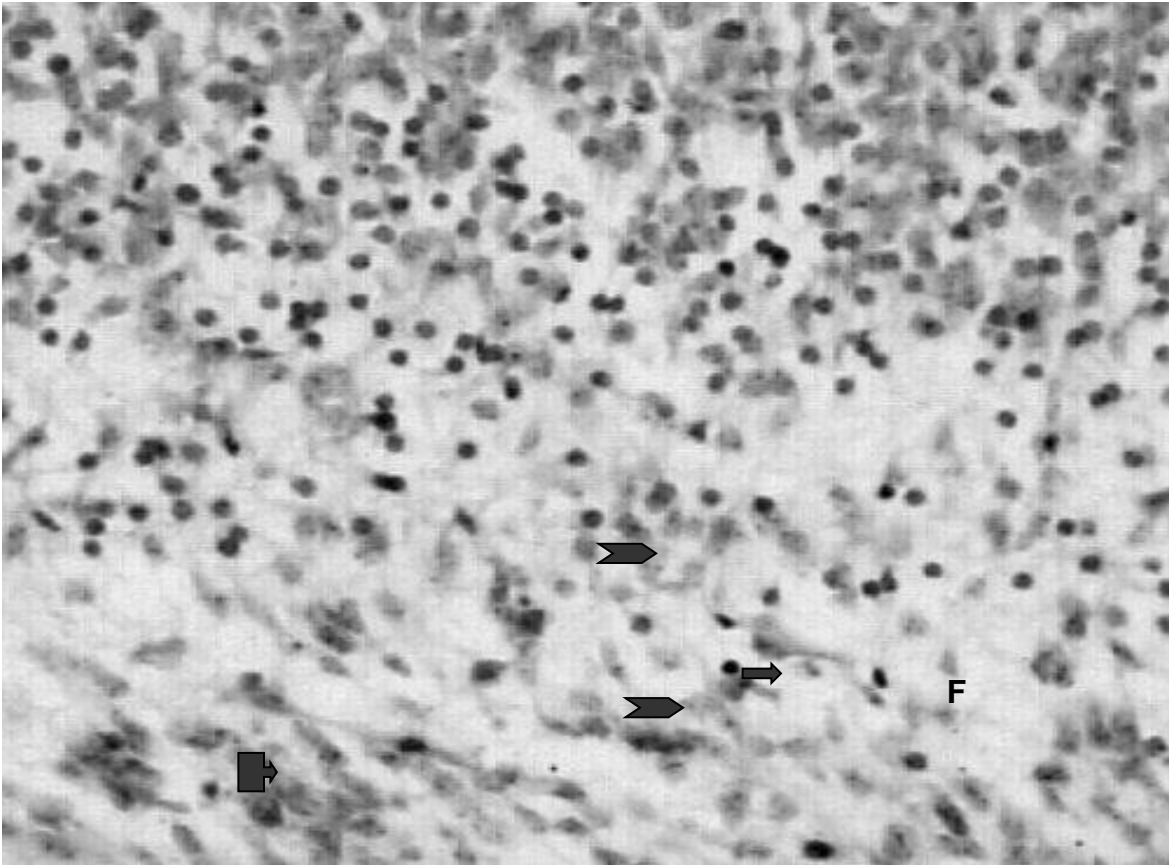
**3.2.3 Subplaca.** Superficialmente limita con el estrato II de la placa cortical e internamente con la zona intermedia. (ver figura 9)






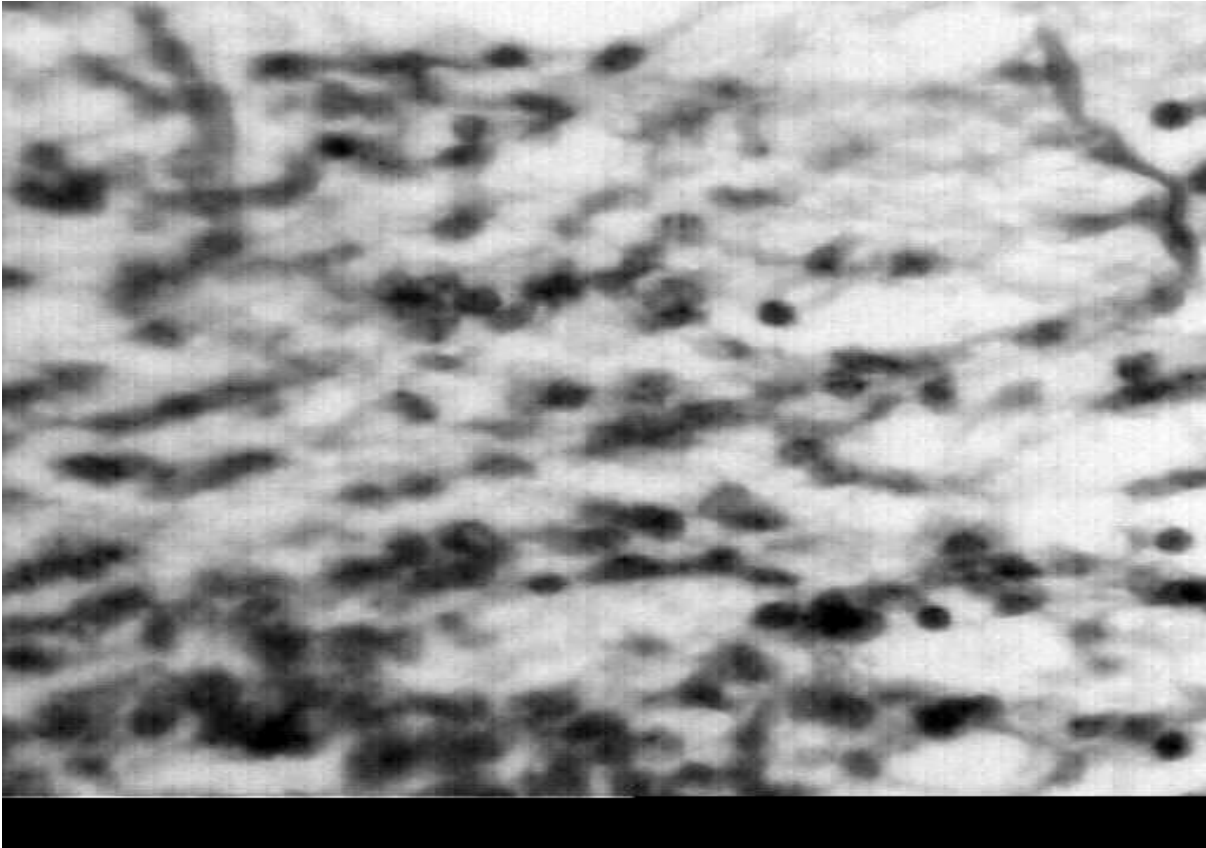
**Figura 11: Microfotografía (40x) de la placa cortical (PC) en la región media. La tinción de los neuroblastos en esta zona permite diferenciar dos estratos celulares: estrato I (Esl) células intensamente teñidas y estrato II (EsII) células con menor afinidad por el colorante y más dispersas; es posible identificar células de tres tamaños celulares: grandes (  ), medianos (  ) y pequeños (  ).**




Los neuroblastos presentes están dispersos y con una morfología redondeada, se aprecian células de formas irregulares y polinucleolares rodeados de abundantes fibras; Las células son: grandes(15,75 $\mu\text{m}$ ), medianas (12,08 $\mu\text{m}$ ) y pequeñas (10,25 $\mu\text{m}$ ).(ver Figura 12) Se destaca por una coloración menos intensa de sus neuroblastos. A este nivel la subplaca presenta un espesor promedio de 113,11  $\mu\text{m}$

**3.2.4 Zona intermedia.** Las células presentes se encuentran ligeramente dispersas y morfológicamente son fusiformes y polinucleolares. La zona presenta algunos elementos vasculares. Se describen tres tamaños celulares, grandes (31,00 $\mu\text{m}$ ), medianos (17,04 $\mu\text{m}$ ) y pequeños (10,06 $\mu\text{m}$ )(ver figura 13), levemente teñidos. En la zona media esta capa presenta un espesor promedio de 122.02  $\mu\text{m}$



**Figura 12:** Microfotografía (20x) de la subplaca (SP) en la región media de la corteza prenatal (E16). Se observan neuroblastos ligeramente teñidos, rodeados por fibras (F) y de tres tamaños celulares: grandes (  ), medianos (  ) y pequeños (  ).



**Figura 13: Microfotografía (40x) de la Zona Intermedia (ZI) en la región media de la corteza pre-frontal. Se observan sus células dispersas, con presencia de elementos vasculares(V) y de fibras(F). Se observan neuroblastos de tres tamaños celulares: grandes ( ) , medianos ( ) y pequeños ( ) .**

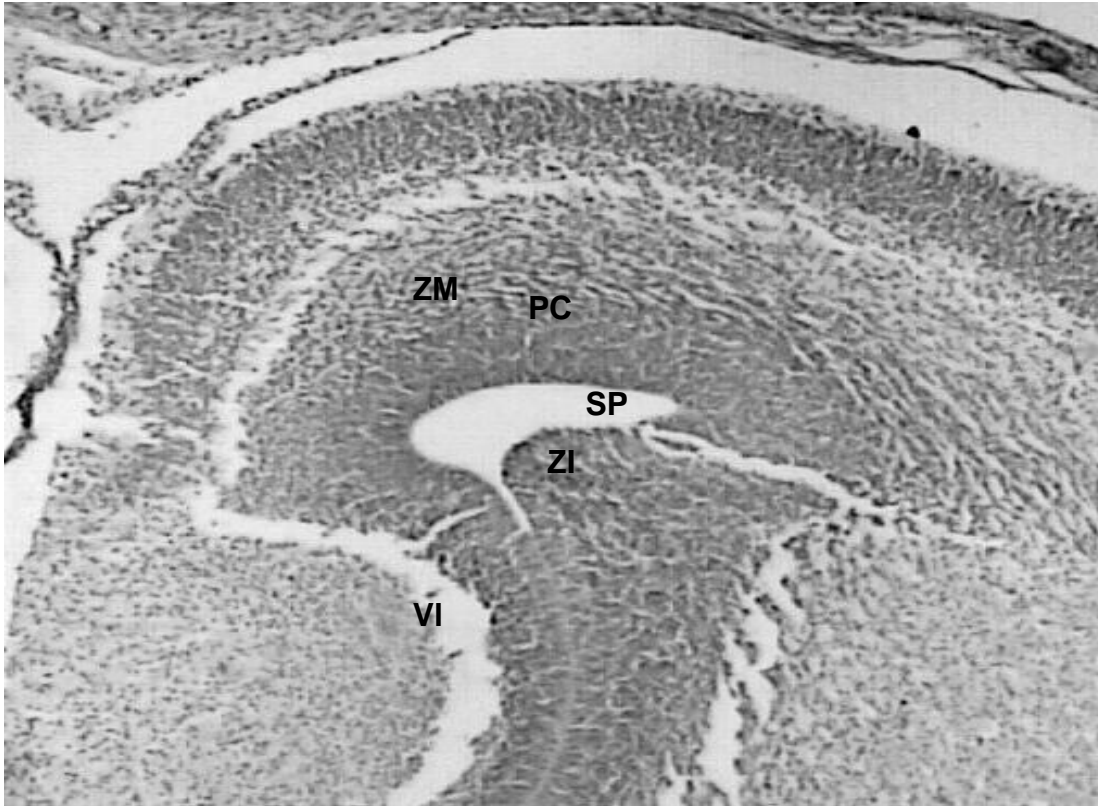


### 3.3 REGIÓN POSTERIOR

Siguiendo un patrón básico de organización laminar, en esta zona se pueden observar y diferenciar 4 capas: la zona Marginal, la placa cortical, la Subplaca y la Zona Intermedia (ver Figura 14)

**3.3.1 Zona marginal.** Sus células están dispersas y son morfológicamente ovaladas aunque también se aprecian células de formas irregulares; son polinucleolares. Se presentan tres tamaños celulares: grandes(22,56 $\mu$ m), medianas (12,25 $\mu$ m) y pequeñas (10,31 $\mu$ m). Se observa una gran afinidad de sus células por el colorante. Es una zona con abundantes fibras y vasos sanguíneos, su espesor promedio de 76,92  $\mu$ m. (ver Figura 15)

**3.3.2 Placa cortical.** Zona que limita superficialmente con la capa marginal y profundamente con la subplaca, sus células están fuertemente empaquetadas, y su morfología predominante es la redondeada. (ver Figura 14) Por la afinidad al colorante fue posible distinguir 2 estratos celulares, uno superficial (estrato I) y otro profundo (estrato II). El espesor promedio de la placa cortical a este nivel es de 80,37 $\mu$ m. (ver Figura 16).



**Figura 14: Microfotografía panorámica (4x )de la región posterior de la corteza pre-frontal prenatal del ratón. De superficie a profundidad se observan la Zona Marginal (ZM), la placa cortical (PC), la subplaca (SP) y la zona intermedia(ZI) . Es visible el Ventrículo lateral (VI).**

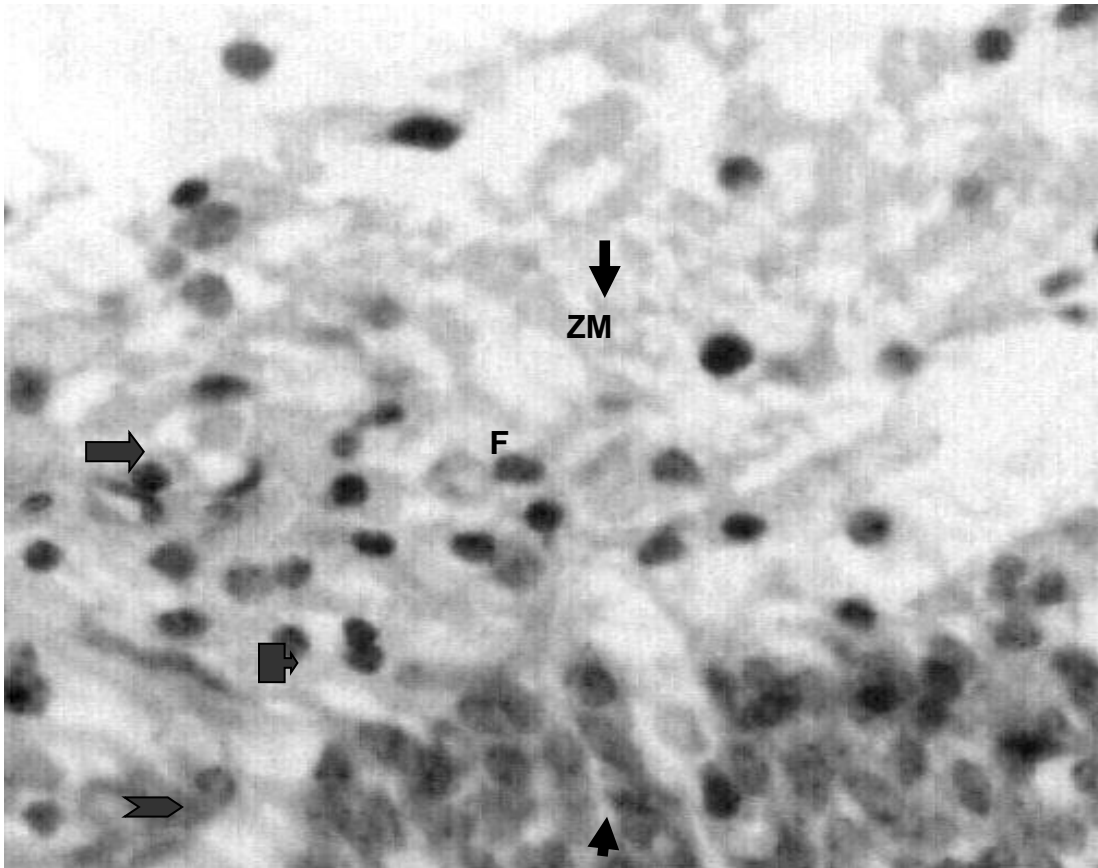


Figura 15: Microfotografía (40x) de la Zona Marginal (ZM) en la región posterior. Presenta una población celular escasa y dispersa, con abundantes fibras (F). Se observan neuroblastos de tres tamaños: grandes ( ), medianos ( ) y pequeños ( ).

- **Estrato I**

Zona de mayor empaquetamiento celular, con neuroblastos polinucleolares.

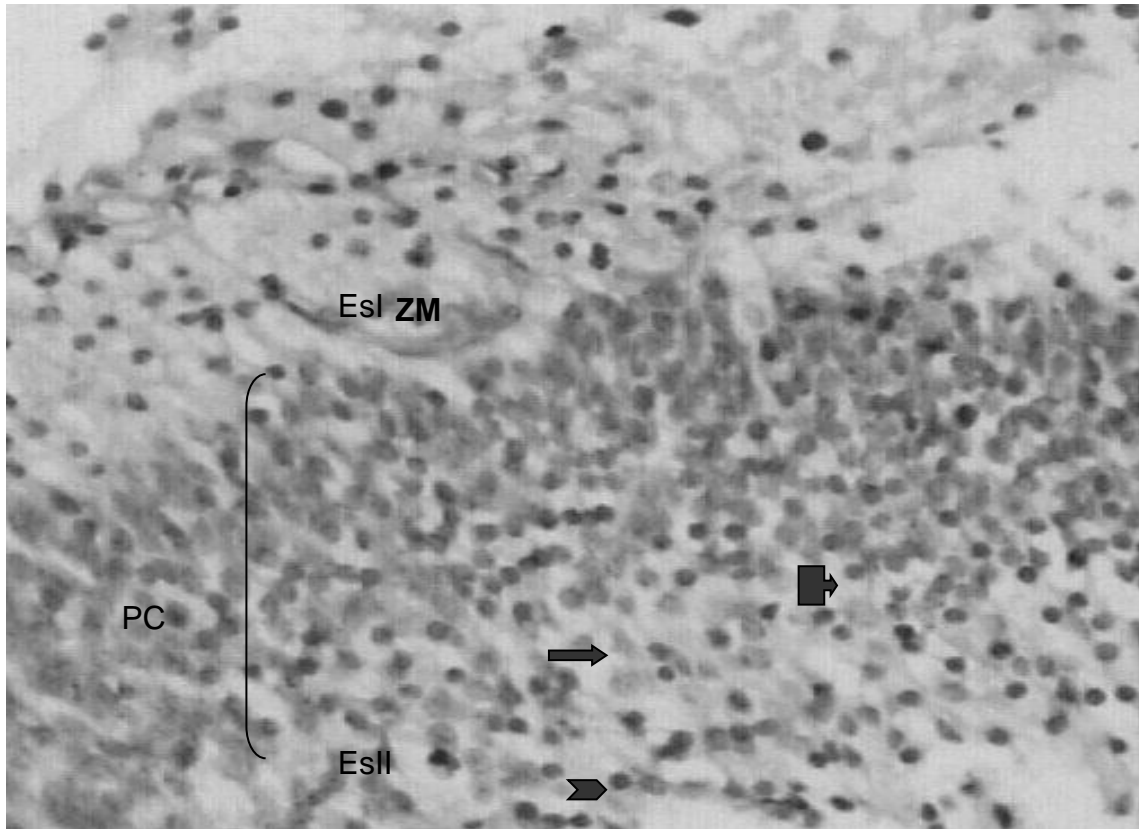
A diferencia de los neuroblastos del estrato profundo que están pobremente teñidos, este estrato se destaca por presentar neuroblastos intensamente teñidos.

El espesor promedio del estrato I es de 46,118  $\mu\text{m}$  . (ver Figura 16).

- **Estrato II**

Presenta a diferencia del estrato I células dispersas. La afinidad por el colorante es menor. En el estrato se pueden observar algunas fibras y vasos sanguíneos. El espesor promedio del estrato II es de 35,69  $\mu\text{m}$  .(ver Figura 16).

**3.3.3 Subplaca.** Se observan células en procesos de migración hacia la placa cortical. Sus células están medianamente empaquetadas y morfológicamente son redondeadas y polinucleolares. Se observaron neuroblastos de tamaños grandes (21,94 $\mu\text{m}$ ), medianos (16,60  $\mu\text{m}$ ) y pequeños (13,94 $\mu\text{m}$ ). Con una mediana afinidad por el colorante con mayor cantidad de fibras y elementos vasculares.(ver figura 17). El espesor promedio de la Subplaca a este nivel es de 134,79  $\mu\text{m}$  .



**Figura 16: Microfotografía (20x) de la región posterior de la corteza prefrontal prenatal del ratón. Se observa la Zona Marginal (ZM), y la placa cortical (PC), en esta se pueden apreciar los dos estratos celulares: estrato I (Esl) y el estrato II (Es II), así mismo los tres tamaños celulares: grandes (→), medianos (➤) y pequeños (■→)**

**3.3.4 Zona intermedia.** La zona presenta menor empaquetamiento celular, y sus neuroblastos son morfológicamente fusiformes y polinucleolares. Su afinidad por el colorante es media. Se observan células de tamaños: grandes (23,69 $\mu$ m), medianas (14,73  $\mu$ m)y pequeñas (10,25 $\mu$ m). (ver Figura 18). La zona intermedia es rica en fibras y vasos sanguíneos. El espesor promedio de esta zona es de 132,57 $\mu$ m .

#### **3.4 ANALISIS SEMI-CUANTITATIVO DE LA ESTRUCTURA CITO – ARQUITECTONICA DE LA CORTEZA PRE-FRONTAL INMADURA.**

Con el objeto de ampliar la descripción de cada región cortical , realizamos la medición de algunas características cito-arquitectónicas de la corteza pre-frontal.

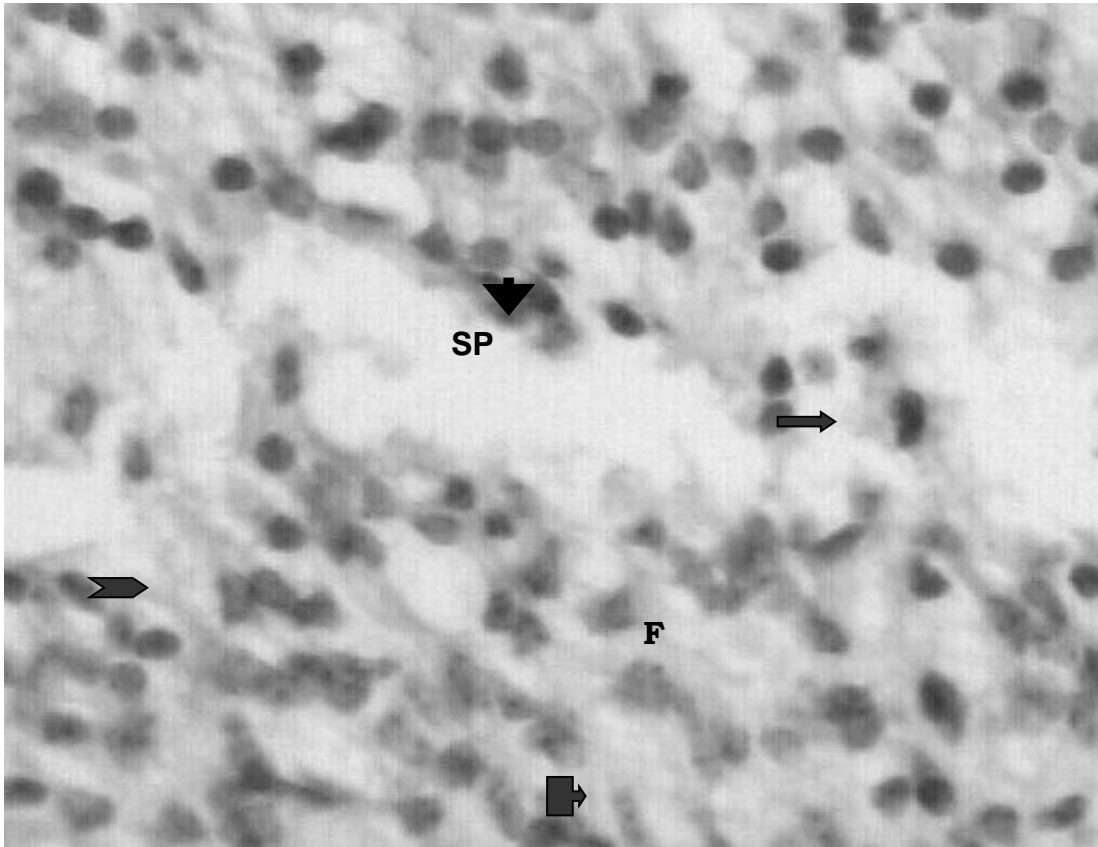
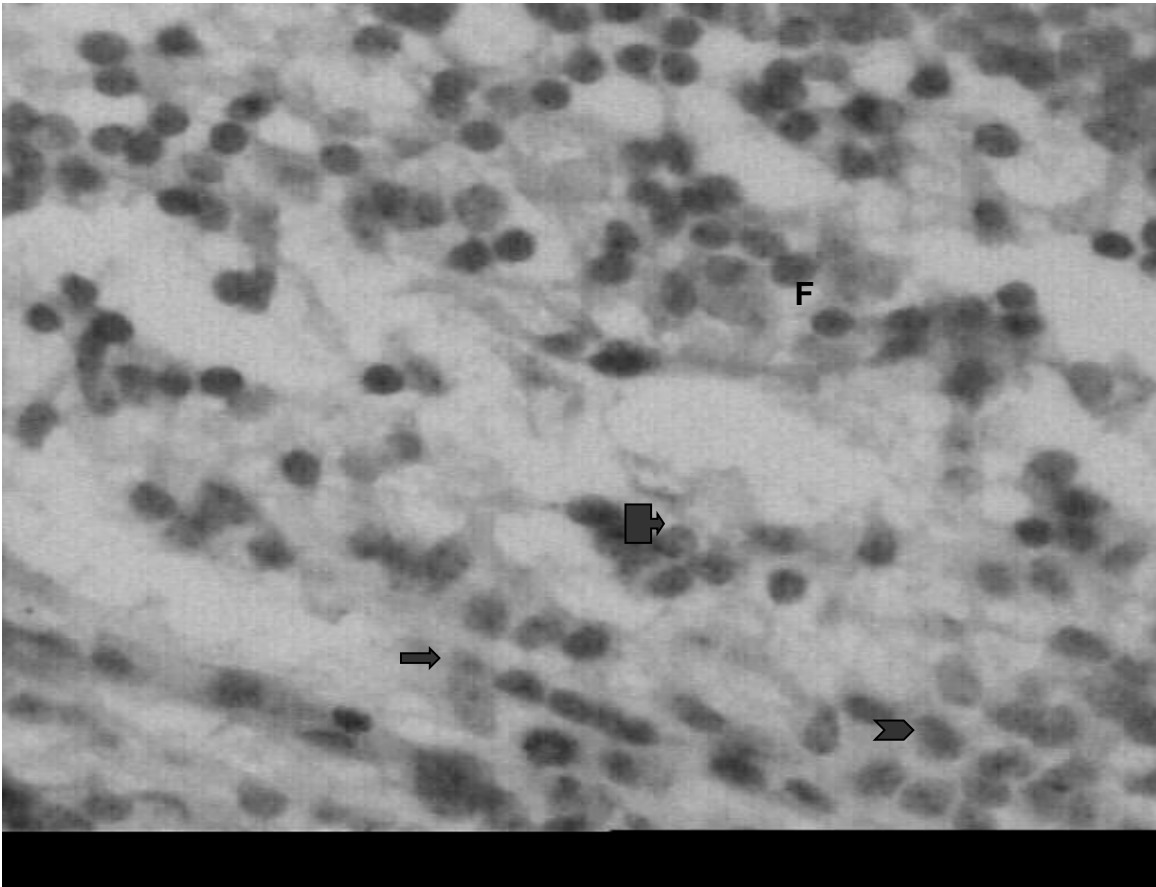


Figura 17: Microfotografía (40x) de la subplaca (SP) en la región posterior de la corteza prenatal. Se observan sus células ligeramente teñidas, y de tres tamaños: grandes (→), medianos (➤) y pequeños (■➤).



**Figura 18: Microfotografía de la Zona Intermedia (ZI) , en la región posterior de la corteza prenatal del ratón. Es muy rica en fibras, entre las cuales se observan neuroblastos con distintos grados de tinción. Se pueden identificar células de tamaños, grandes ( → ), medianos ( ➤ ) y pequeños ( ■→ ).**



**3.4.1 Espesor de las capas corticales según la región.** En nuestras mediciones, se observó que la zona marginal presentó un espesor promedio sensiblemente mayor en la región posterior que en las regiones media y anterior, en las cuales el espesor promedio de la capa pareció ser sensiblemente similar (Ver Figura 19; tabla 2).

La placa cortical incrementó su espesor promedio desde la región posterior a la región anterior en un claro gradiente rostro – caudal. ( Ver Figura 19; tabla 2 )

La subplaca en la región anterior es la capa de mayor espesor promedio; no ocurrió esto en las regiones media y posterior (ver Figura .19; tabla 2).

Finalmente la zona Intermedia presentó en la región posterior un máximo valor del espesor promedio comparado con los valores de las regiones anterior y media, las cuales mostraron un espesor muy similar. (Ver Figura. 19, tabla 2).

**3.4.2 Espesor de los estratos i y ii de la placa cortical según la región.** En la descripción cualitativa de la placa cortical se detectó diferencias en el espesor de los estratos, según la región que estuviéramos estudiando. El estudio semicuantitativo permitió establecer que el estrato I de la región media , siempre fue el de mayor espesor comparado con la regiones anterior y posterior; por otro lado el estrato II de la región anterior presentó un espesor promedio mayor que el espesor observado en las regiones media y posterior (ver Figura. 20 y tabla 3).

**3.4.3. Tamaños celulares de los neuroblastos por capas en cada región de la corteza pre-frontal.** Al realizar las mediciones de los neuroblastos determinamos la presencia de tres tamaños celulares: grandes, medianos y pequeños. Independientemente de las capas, (zona marginal, placa cortical, subplaca y zona intermedia ), ó de la región que se estudiara (anterior, media y posterior ) siempre encontramos los tres tamaños descritos (ver Figura 21 , 22 y 23; tabla 4).

**Tabla 2. Espesor promedio ( $\mu\text{m}$ ) de las capas corticales**

	Región anterior (n=10)		Región media (n=10)		Región posterior (n=10)	
	Espesor $\mu\text{m}$	+/-	Espesor $\mu\text{m}$	+/-	Espesor $\mu\text{m}$	+/-
Marginal	29,65	3,64	33,58	1,09	76,92	2,34
Placa cortical	131,72	1,90	121,61	0,55	80,37	2,07
Subplaca	155,78	1,77	113,11	0,77	134,79	1,04
Zona intermedia	128,50	1,76	122,02	1,84	132,57	0,86

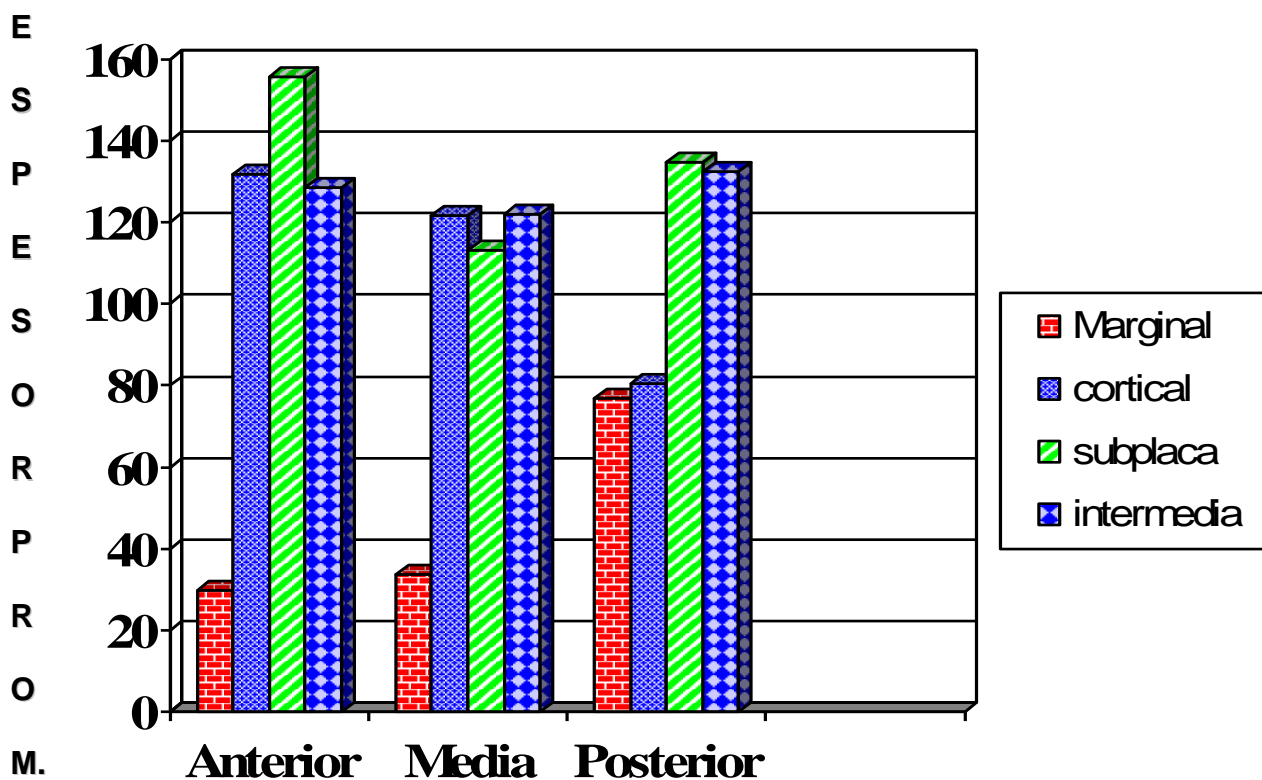
**Tabla 3. Espesor promedio ( $\mu\text{m}$ ) de los estratos I y II de la placa cortical**

	Región anterior (n=10)		Región media (n=10)		Región posterior (n=10)	
	Estrato I	Estrato II	Estrato I	Estrato II	Estrato I	Estrato II
Placa cortical	69,65 +/- 1,45	68,11 +/- 1,4	80,93 +/- 0,71	1,63 +/- 1,07	46,18 +/- 0,59	35,69 +/- 0,64

**Tabla 4. Tamaños promedio de los neuroblastos en la corteza prenatal.**

	ANTERIOR ( $\mu\text{m}$ ) (n=50)			MEDIA ( $\mu\text{m}$ ) (n=50)			POSTERIOR ( $\mu\text{m}$ ) (n=50)		
	Peq.	Med.	Gran	Peq.	Med.	Gran	Peq.	Med.	Gran
<b>ZONA MARGINAL</b>	14,38	17,27	23,06	10,50	13,04	18,13	12,25	12,25	22,56
<b>PLACA CORTICAL</b>	13,50	15,48	19,44	13,00	15,87	21,63	14,19	15,75	18,88
<b>SUBPLACA</b>	13,69	16,09	20,69	10,25-	12,08	15,75	13,94	16,60	21,94
<b>INTERMEDIA</b>	14,81	21,62	35,25	10,06	17,04	31,00	10,25	14,73	23,69-

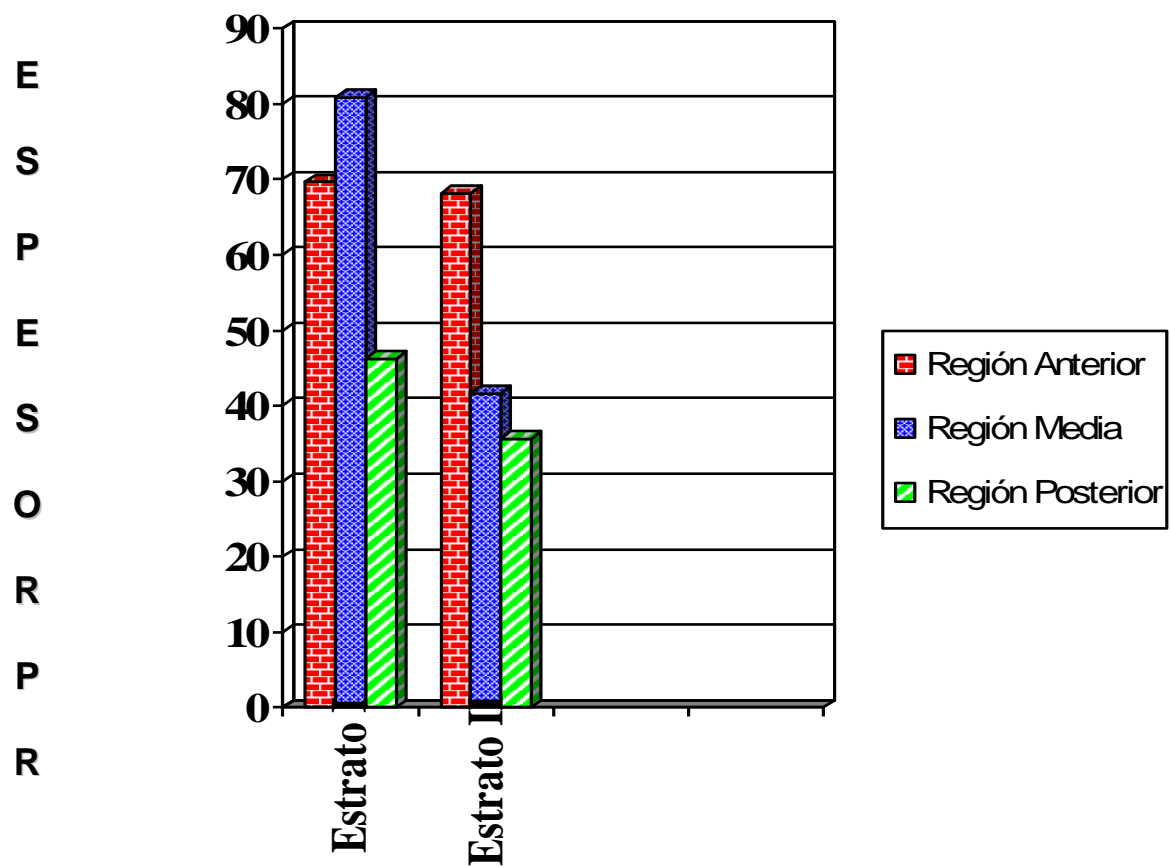
**Figura 19. Espesor promedio en cada región de las capas de la corteza frontal temprana**



E  
S  
P  
E  
S  
O  
R  
P  
R  
O  
M.  
(μ  
M)  
D  
E  
L

Regiones de la Corteza

**Figura 20. Espesor promedio de los estratos de la placa cortical en las regiones de la corteza frontal temprana**



**Figura 21. Diámetro promedio de los neuroblastos en la región anterior de la corteza frontal por capas**

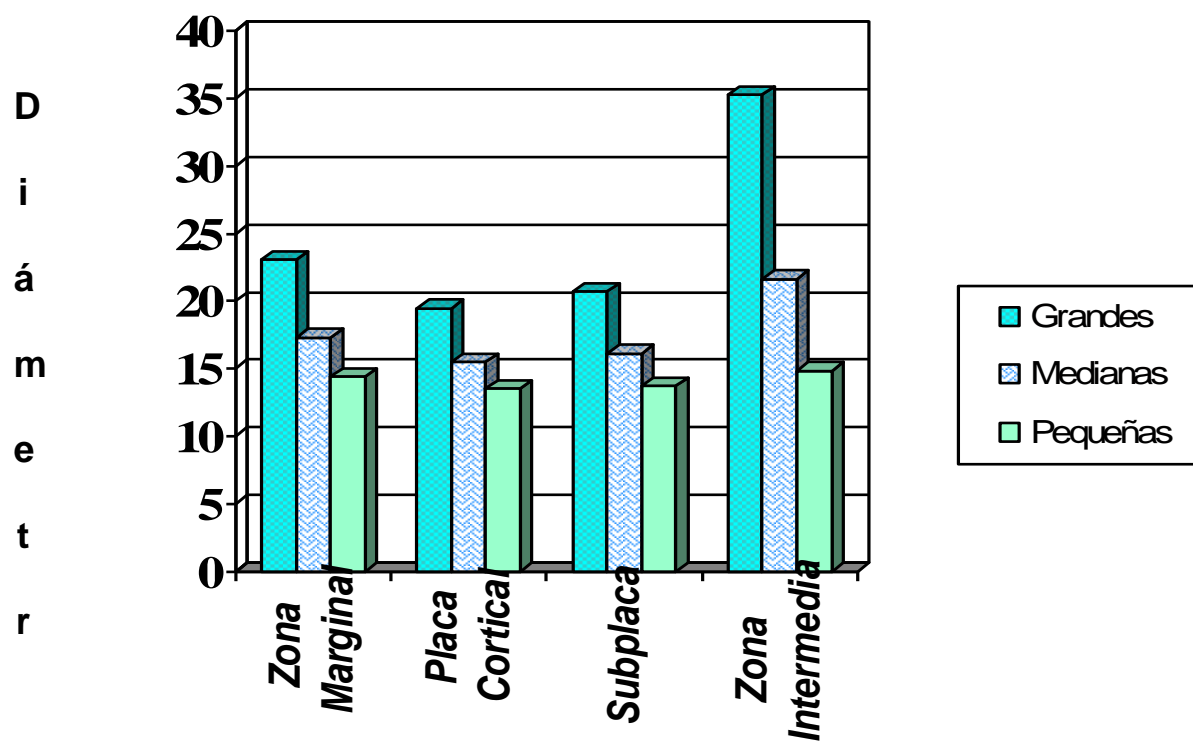
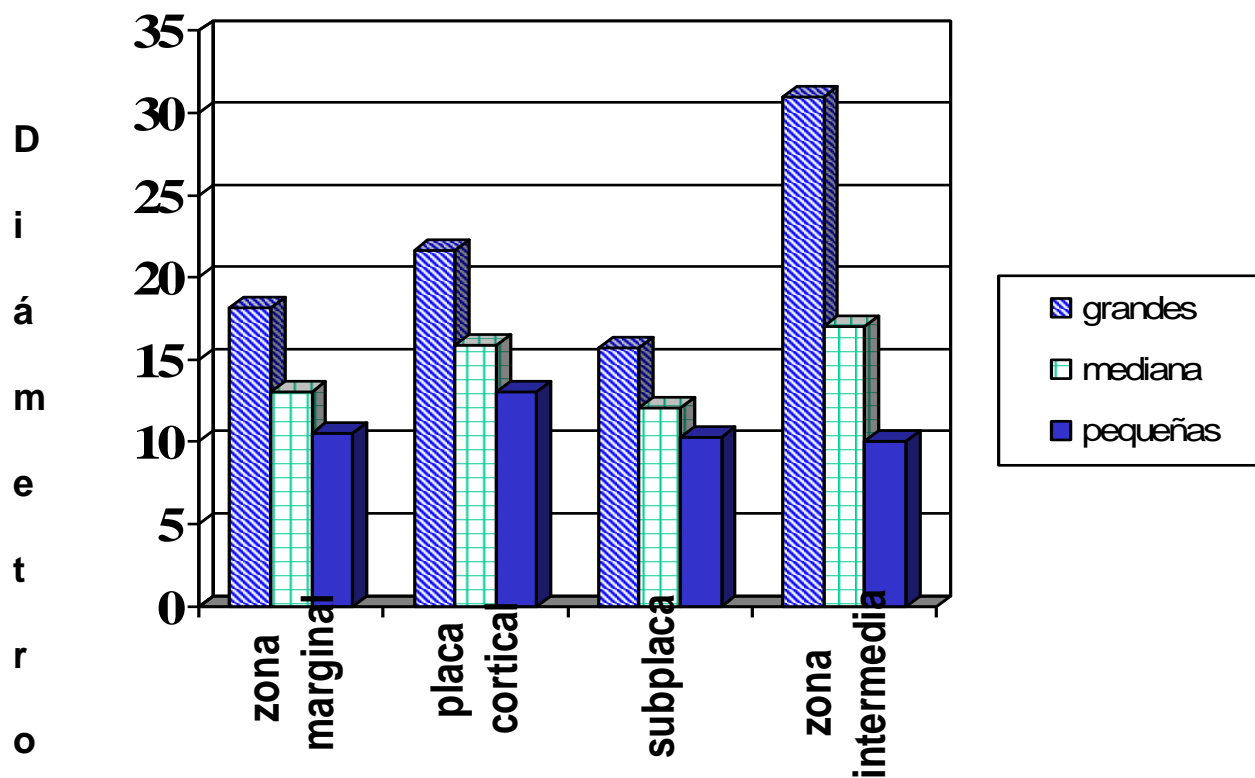
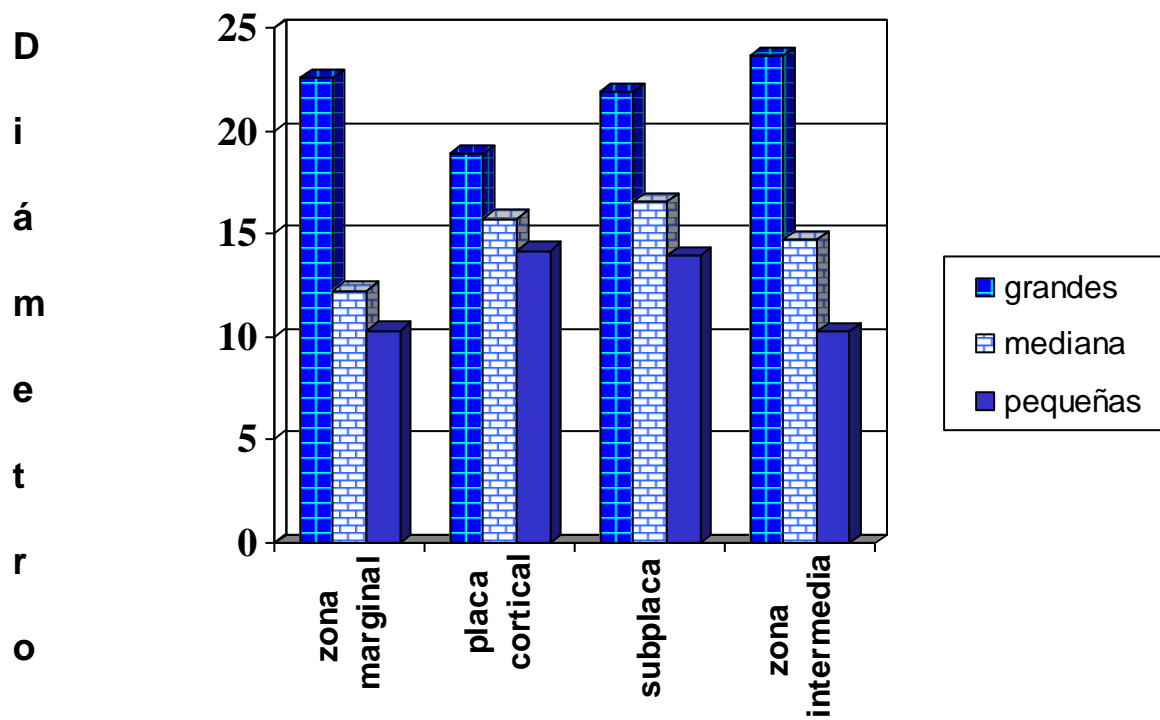


Figura 22. Diámetro promedio de los neuroblastos en la región media de la corteza frontal por capas



**Figura 23. diámetro promedio de los neuroblastos  
en la región posterior de la corteza frontal por capas**





#### 4. DISCUSIÓN

Siguiendo un patrón general de organización de la corteza prefrontal temprana en E16, Creutzfeldt, (1995) propone que en los vertebrados la corteza cerebral se desarrolla muy tempranamente en la vida prenatal y la generación de neuroblastos, su posterior migración varía según la especie en espacios temporales diferentes; Estos procesos explican la aparición temprana de la placa cortical en los desarrollos pre y postnatal dando origen posteriormente a la corteza propiamente dicha.

En este trabajo el estudio detallado de la organización de la corteza cerebral inmadura me permite, de acuerdo a criterios como grado de empaquetamiento celular , densidad, presencia de fibras , de elementos vasculares , grado de tinción de los neuroblastos , espesor de las capas y el tamaño de los neuroblastos , determinar el grado de organización y maduración de la corteza en el día 16 de la vida prenatal a partir de la comparación realizada entre las regiones en las cuales subdividimos la corteza frontal.

Se estableció que en el día 16 del desarrollo prenatal (E16) la corteza inmadura presenta un patrón de organización de 4 capas corticales las cuales de superficie a profundidad son: la zona marginal, la placa cortical, la subplaca, la zona

intermedia. Dicho patrón de organización fue común en todas las regiones de la presuntiva corteza frontal temprana (anterior, media y posterior).

Van Eden y col 1985 en la descripción del desarrollo de la corteza frontal de la rata, describieron una organización morfológica y estructural similar a la que nosotros reportamos en el ratón. En general la placa cortical en la vida prenatal temprana, se caracteriza por procesos de migración, diferenciación neuronal y procesos preliminares de organización de las presuntivas capas corticales.

La corteza cerebral es la superficie altamente plegada del hemisferio cerebral, y su forma se genera durante el proceso de evolución, cuando el volumen de la corteza cerebral de los primates se incrementa más rápidamente que el volumen del cráneo; es el componente mayoritario del cerebro humano. Una de sus características morfológicas más impresionantes es la organización de sus neuronas en varias capas (I-VI), que están controladas de manera muy eficaz para poder llevar a cabo las conexiones adecuadas en los lugares precisos. Por otra parte, la posición de las neuronas en distintas capas está asociada a su "fecha de nacimiento", es decir, el momento en que el precursor neuronal se divide por última vez para dar lugar a lo que se llama una neurona post-mitótica (no se puede dividir más). Se ha demostrado que las neuronas más "viejas" se encuentran en las zonas más profundas, mientras que las neuronas más "jóvenes" se sitúan en capas más superficiales de la corteza. Por lo tanto, esta organización neuronal cortical en capas se alcanza gracias a una secuencia de diferenciación neuronal

donde los procesos de migración ejercen un papel muy importante. Sin embargo, los mecanismos por los que las neuronas de diferentes capas adquieren propiedades distintas no se han elucidado aún. **(Pujades 2000)**

En conclusión la revisión general de la organización de la corteza inmadura nos indica, que a esta edad, aún no es posible diferenciar con claridad la presencia de la organización laminar característica de esta parte del encéfalo.

En nuestro estudio, la zona marginal presentó en cada una de las tres regiones (anterior, media y posterior), una grado de organización similar caracterizado por presentar abundante número de fibras nerviosas y vasos vasculares, una población escasa y dispersa, neuroblastos de formas irregulares, con una gran afinidad por el colorante, el cual indica menor grado de maduración celular y clasificados en tres tamaños celulares (grandes, medianos y pequeños)

El espesor promedio de la zona marginal fue sensiblemente mayor en la región posterior, comparado con el espesor hallado en la región anterior. Lo descrito podría sugerir un gradiente de diferenciación caudo- rostral de la zona marginal o presuntiva capa I.

Se ha reportado que hacia el día 14 de la vida prenatal, la zona marginal empieza a mostrar algunos elementos vasculares y células dendríticas de Cajal Retzius , aun antes que aparezca la placa cortical y la subplaca . Para el día 16 de la vida

prenatal ya se encuentran sinapsis axodendríticas y axosomáticas en la zona marginal similares a las observadas en la placa cortical y en la subplaca. (Baslev y col. 1996). Lo anterior indica un grado de diferenciación celular avanzado para esta edad del desarrollo cerebral.

Chanchi (1997) en su estudio de la corteza prefrontal del ratón entre los días E12 a P0 del desarrollo prenatal y postnatal encontró que la zona marginal es de escaso espesor y presenta una baja densidad celular y una presencia rica en fibras.

Rose (1935), Vogt and Brodmann (1909), Von Economo (1927), reportan que la zona marginal se caracteriza por contener solo unas pocas neuronas, dispersas, dendritas apicales y axones orientados radialmente con abundantes fibras.

De igual manera se ha podido demostrar que esta zona presenta una población transitoria de neuronas (Luskin and Shatz 1985, Chun, Nakamura, Chatz 1987; Chun and Shatz 1988).

Mina (2002) de manera similar a nuestro estudio, en su descripción del desarrollo de la corteza frontal del ratón recién nacido (P0) menciona que esta zona presenta una gran cantidad de fibras y pocos neuroblastos dispersos ya establecidos en ella, donde la migración de estos es pobre y presumiblemente a esta edad del desarrollo ya se han establecido de manera definitiva.

Jacobson (1989) describe que la placa cortical en los animales superiores comienza a desarrollarse muy temprano durante el desarrollo pre y postnatal; su presencia indica un desarrollo cortical temprano, diferentes grados de organización cortical , una antesala de los procesos de diferenciación de las distintas poblaciones celulares que conformarán las laminas de la corteza propiamente dicha.

Nuestros resultados reportan la presencia de neuroblastos en distintos grados de diferenciación celular que permitieron por su disposición identificar hacia el día E16 del desarrollo prenatal, la existencia de una placa cortical, limitada superficialmente por la zona marginal y profundamente por la subplaca. La placa cortical presentó un patrón de organización similar en las tres regiones estudiadas (anterior, media y posterior), con presencia de fibras, empaquetamiento leve de sus neuroblastos que debido a su afinidad por el colorante nos permitió identificar dos estratos celulares: estrato I y estrato II.

La menor afinidad de los colorantes del estrato II, indican un mayor grado de diferenciación comparado con el observado en los neuroblastos del estrato I .

Lo anterior claramente sugiere la presencia de un gradiente de diferenciación ventro – dorsal, ya descrito en otros trabajos en distintas especies de animales (Van Eden y col 1985, Fairen y col 1998, Jacobson 1989).

Por otro lado dicho patrón presente en la placa cortical muestra que las células están migrando en un sentido “inside – out”, en el cual las células menos

diferenciadas se disponen más superficialmente en la corteza inmadura (Pujades 2000).

Por su parte Mina (2000) al día P0 del desarrollo postnatal a diferencia de nuestros resultados reportó la presencia de cuatro estratos en la placa cortical. Tal diferencia probablemente es debida a que hacia el día E 16 de la vida prenatal aún no han alcanzado la placa cortical, neuroblastos que se instalarán más tardíamente en el desarrollo de esta parte de la corteza cerebral temprana y que presumiblemente originaran las capas VIa y VIb hacia el desarrollo postnatal (Mina 2002, Van Eden y col 1985)

Estas apreciaciones sugieren que en el desarrollo prenatal, las células más diferenciadas migraron a través de los estratos que presentaban células más diferenciadas. Hicks y col (1984), Rakic (1974), en sus estudios en ratones y monos Rhesiu basados en secuencias de porcentajes de migración de las neuronas jóvenes de zona ventricular a la placa cortical, reportaron que esta es inicialmente uniforme pero después se transforma expandiéndose con el tiempo, y que tal comportamiento de migración sugiere que está asociado con los procesos de diferenciación celular y que por lo tanto se puede hablar de un gradiente de migración Vento – Dorsal , también conocido con el nombre de Inside - Outside.

Los resultados de nuestro estudio mostraron diferencias en el espesor de la placa cortical, cuando los comparábamos entre las regiones ( anterior , media y posterior).

Autores previos (Jacobson 1989) han sugerido que el grado de dispersión o empaquetamiento de las poblaciones de los neuroblastos en el desarrollo, pueden indicar el grado de maduración de una estructura cerebral. De acuerdo con lo anterior las diferencias de espesor observadas para la placa cortical, entre las regiones, señalan que la región anterior presenta una placa cortical más madura que la región posterior en un claro gradiente de diferenciación rostro – caudal.

Chanchi (1997 ) en su estudio de la sinaptogénesis de la corteza frontal del ratón entre la edad prenatal E 12 y P0 , encontró que la Subplaca , sólo se hace presente en el desarrollo prenatal hacia el día E 16. Nuestro estudio si lo corrobora. La subplaca presenta neuroblastos originados en la zona ventricular o del neuroepitelio que bordea las superficies ventrales, migran en gradiente inside – outside y que según Van Eden y col. (1985) muchas células deben superar en su transito hacia la placa cortical , esta capa.

La subplaca en E 16 se caracteriza por presentar neuroblastos en diferentes procesos de migración ventro – dorsal y en las cuales fue posible identificar distintos grados de diferenciación de acuerdo con su afinidad por el colorante y su posición de migración propiamente dicha(ventral o dorsal). Por otro lado en nuestros resultados demostramos que el espesor de la Subplaca varía según la región que estudiáramos (anterior, media o posterior). Dichas variaciones permitieron definir en la placa cortical un gradiente de diferenciación rostro – caudal.

Estos resultados coinciden en general con el patrón de diferenciación rostro – caudal descrito para la Subplaca por Mina (2002) en el desarrollo prenatal de la Corteza frontal.

Nuestros hallazgos sugieren, que los patrones de diferenciación cortical establecen desde la vida prenatal temprana y muy probablemente antes del día E16 de la vida prenatal.

Chanchi (1997) y Mina (2002) en su estudio de la corteza frontal de ratón reportaron que el proceso de migración y la densidad de los neuroblastos indiferenciados en la subplaca de la región posterior es mucho mayor que en las regiones anterior y media. Sin embargo, en nuestro estudio en E 16 mostró procesos de migración hacia la placa cortical similares en cada una de las regiones ; esta diferencia podría explicarse de algún modo en la edad de desarrollo estudiada.

Recientemente se ha sugerido la importancia que podría tener la subplaca en los procesos de llegada o arribo de axones provenientes de otras regiones cerebrales, como en el caso de las fibras talámicas . Se ha propuesto que las células de la subplaca además de establecer contactos sinápticos transitorios, podrían producir factores de guía axonal, que influenciarían el desarrollo cortical temprano y tardío. (López Bendito y col. 2003).



En nuestros resultados encontramos una zona intermedia muy diferenciada comparada con las otras capas de la corteza en esta edad del desarrollo prenatal. Lo anterior se comprueba al mostrar que en general , independientemente de la región, siempre fue posible observar células escasamente teñidas y por otro lado fue difícil establecer un verdadero gradiente de diferenciación rostro- caudal o caudo- rostral, al observar valores en el espesor de la zona bastantes similares.

Estas observaciones son similares a las descritas por Jacobson (1985), Rakic (1972) y Morales (2002), en la Zona Intermedia de roedores y monos.

La zona intermedia es una zona de transición entre la zona germinal y las capas superficiales de la corteza hacia la cual migran los neuroblastos. La zona además se caracteriza por la presencia de abundantes número de fibras de origen subcortical.

## CONCLUSIONES

1. En E 16 la presuntiva corteza frontal presenta un patrón de organización por laminas que se reconoció por la presencia de la zona marginal , placa cortical, subplaca y zona intermedia.
2. El patrón de organización es similar a las tres regiones en las cuales se dividió la corteza frontal (anterior, media y posterior.)
3. En E 16 la placa cortical presenta una organización en estratos: estrato I y estrato II
4. El grado de espesor de cada una de las capas de la presuntiva corteza cerebral es diferente en esta edad del desarrollo.
5. El tamaño de los neuroblastos en cada una de las capas, independiente de las regiones estudiadas se presentó en tres tamaños celulares (grandes, medianos y pequeños).
6. El grado de coloración, la presencia de fibras, la dispersión celular sufrió variación en las diferentes capas y regiones de la corteza inmadura.

## **RECOMENDACIONES**

El presente trabajo puede ser de gran interés en el campo del neurodesarrollo y de las neurociencias en general, forma parte de una serie de estudios histológicos sobre la organización y diferenciación de células de la corteza cerebral de mamíferos, con sus tinciones respectivas y su posterior análisis.

Invita a su continuidad, retomando aspectos que lo lleven a una mejor ilustración ya que es poco lo que se conoce sobre la organización cito-arquitectónica de la corteza puesto que los estudios realizados en esta región durante el desarrollo prenatal , mediante técnicas estructurales son escasos.

## BIBLIOGRAFÍA

ANGEVINE, J.B. and SIDMAN, R.L. Autoradiographic study of cell migration during histogenesis of cerebral cortex of the mouse . Nature.1961 192:766-768

AULADELL, C. et al.The early development of thalamocortical and corticothalamic projections in the mouse. Anat embryol (Berl) 2000 Mar 201:169-79.

AUSTIN CP, CEPKO CL. Cellular migration patterns in the developing mouse cerebral cortex. Development 1990.

BALSLEV Y Et al. Synaptogenesis in the neocortical anlage and early developing neocortex of rat embryos. Acta Anat (Basel) 1996 156:2-10.

BECKSTEAD, R. M. An autoradiographic examination of corticocortical and subcortical projections of the mediodorsal ( prefrontal ) cortex in the rat. J. Comp. Neurol. 1979. 184: 43-62.

BOULDER COMMITTEE. Embryonic vertebrate central nervous system: Revised - terminology Anat. Rec 1970. 166: 257-262.

BOURGEOIS, J. P. and RAKIC, P. Changing of synaptic density in the primary visual cortex of the rhesus monkey from fetal to adult stage. *J. Neurosci.*1993.3:2801-2820

\_\_\_\_\_, et al . Synaptogenesis in the prefrontal cortex of rhesus monkey. *Cerebral Cortex.*1994. 4:78-96.

BRODMANN, K. Vergleichende localisationslehre der grosshirnrinde. J.A. Barth. Leipzig.1909. 2:79-159.

BUSTAMANTE, Jairo B. Neuroanatomia funcional. Addison, wesley Iberoamericana Mexico. 1987. Pag 213-217.

CLASCA, F, Et al Layer specific programs of development in neocortical projections. *Proc Natl Acad Sci USA.* Vol 92. Nov 92:11149-9. (1995).

CREUTZFELDLT, and OTTO DETLEV. Cortex cerebri. Performance, structural and funtional organization of the cortex. Max –Planck Institute for Biophysical Chemistry, Germany. Oxford New York Tokyo. 1995. Pags 67-125

CHANCHI, CLAUDIA MARGARITA. Sinaptogénesis de la corteza frontal del ratón durante el desarrollo prenatal: Un estudio ultraestructural. Popayán, 1997., 34-

38p. Tesis (Bióloga). Universidad del Cauca. Facultad de educación. Area de Microscopia.

CHATZ, C. J. Changing patterns of synaptic input to subplate and cortical plate during development of visual cortex . J. Neurophysiol. 1991. Dec 66:2059-71

CHUN, J.J.et al. Transient cells of the developing mammalian telencephalon are peptide-immunoreactive neurons. Nature,1987. 617-20.

\_\_\_\_\_, et al. Afibronectin is present in the developing cat cerebral cortex and is correlated with subplate neurons. J. Cell Biol 1988 Mar 106:857-72

DARLENE S.Et al. Synaptic targets of pyramidal Neurons providing intrinsic horizontal connetictions in monkey prefrontal cortex.The journal of comparative Neurology Volume 390, Number 2, pages 211-224, 12 january 1998

DE BRUIN, J.P. et al. Behavioral changes following lessions of the orbital prefrontal cortex in male rats. Behav. Brain Res.1983. 10:209-232.

DIVAC, I.A. et al. Subcortical projections to the prefrontal cortex in the rat as revealed by the horse-radihs-peroxidase technique. Neuroscience 1978. 3:785-796.

DONOGHUE MJ, RAKIC P. Molecular evidence for early specification of presumptive functional domains in the embryonic primate cerebral cortex. *J Neurosci* 1999 jul 15 volumen 19 Issue14 5967\_79

FAIREN A; MARCO P. et al. GABA-immunoreactive cells of the cortical primordium contribute to distinct fated neural populations. *Perspectives in developmental Neurobiology*, in press. 1998. 7:619-634.

FROTSCHER. M. Cajal- Retzius cells ,reelin and the formation of layers. *Curr Opin Neurobiol*. 1998. Oct 8:570-5.

FUSTER, J.M. Prefrontal cortex in motor control. In V. Brooks (ed): *Handbook of Physiology-The nervous systems*, II Williams and Wilkins, Baltimore, 1982. pp. 1149-1178.

GERBI SA, los nucleólos: antes y ahora. *Chromosoma*. Junio 10 1997 pag. 385-387

GOLDMAN, S. and RAKIC, P. Development and plasticity of the primate cerebral cortex. *Clin perinatol*. 1990. 17:83-102.

GONZALO ALVAREZ Et al. *Molecular Analysis of Brain development and function*. Elsevier. 2000, 193-198.

HAFF THOMAS ET al. Quantitative Determination of rDNA Transcription Units in Vertebrate Cells ,Experimental Cell Research 193 . 1991 Pag. 78-86

HICKS, S. P. and C. J,D`AMATO. Cell migrations to the isocortex in the rat. Anat. Rec. 1968. 160:619-634.

HOSHI, Erji and TANJI, Jun. Behavioral planning in the prefrontal cortex. Current opinion in Neurobiology. 2001, 11:2:164-170

HUTTENLOCHER PR, Et al. Reginal diferences synaptogenesis in human cerebral cortex. J compNeurol 1997 oct 20; 387 (2):167-78.

\_\_\_\_\_ Et al. The development of synapses in striate cortex of man. Hum. Neurobiol.1987. 6:1-9

\_\_\_\_\_. Synaptic density in human frontal cortex-developmental changes and effects of aging. Brain Res, 1979. 163: 195-205 1979

J.SHATZ CARLA. Desarrollo Cerebral. Revista Investigación y Ciencia . Noviembre 1992 # 194.

JACOBSON, SAND S. Q. Prefrontal agranular cortex of the rhesus monkey. I intrahemispheric cortical affernts. Brain Res. 1989. 132:209-233.



JAMES L., GERMÁN. Annales de gènétique. New York, 1991.Vol. 3

JHONSON FB et al , Telomeros los nucleólos y envejecimiento .Curr Opin Cell Biol junio 1998.pag 332-338

JOHN N. Et al The Núcleos: Structure, function,and dynamics. La Jolla California. 1987

JURASKA J.M. .The development of pyramidal neurons after eye opening in the visual cortex of hooded rats:a quantitative study. J. Comp. Neurol.: 212 1982.

KALSBECK ,A .The Role of Dopamine in the Development of the Rat Prefrontal Cortex. Ph D. Thesis, University of Amsterdam. Meppel: Krips Repro 1989.

KOLB, B and NONNEMAN, A.J. Functional development of the prefrontal cortex in the rat continues into adolescence. Science. 1976. 193:335-336

\_\_\_\_\_. Functions of the frontal cortex of the rat: A comparative review. Brain; Res. Rev. 1984. 8:65-95.

KOSTOVIC, I. and RAKIC, P. Development of prestriate visual projections in the monkey and human fetal cerebrum revealed by transient cholin esterase staining. J. Neurosci.1984. 4:25-42.

KRETTEK, J. E. and PRICE. The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. J. Comp. Neurol.1977. 177:157-560

KRISTT, D. A. And MOLLIVER, M .E. .Synapses in newborn rat cerebral cortex: a quantitative ultrastructural study. Brain Res. 1081976 pag. :180-186.

LE GROS, CLARK. The structure and connections of the thalamus. Brain. 1932. 55:406-470.

LEONARD, C.M.The prefrontal cortex of the rat. I. Cortical projection of the mediodorsal nucleus. II. Efferent connetions. Brain Res. 1969. 12:321-343.

LEVITT, P Et al. Immunoperoxidase localization of glial fibrillary acidic protein in radial glial cells and astrocytes of the developing rhesus monkey brain. J. Comp Neurol 1980 oct 193:815-40.

LINDVALL, O. y col. Organization of catecholaminergic neurons projecting to the frontal cortex of the rat. Brain Res.1978. 142:1-24.

LAFARGA M y col. Changes in nucleolar Morfhology and Volume of the supraoptic Nucleus neurons during postnatal development of the rat . Santander (Spain ) Julio 1985 .

LOPEZ – BENDITO y col thalamocortical Development: How are going to get there?. Nature .Rev. Neuroscience 4: 276-89, 2003.

MCBRIDE, THOMAS; y col. Comparative analysis of the prefrontal cortex in human and Baboon. Department of Psychiatry, university of Pennsylvania, Philadelphia, USA. Original paper Brain, Behavior and Evolution 1999, 54:3:159-166.

MEINECKE, D.L. and RAKIC, P. The temporal relationship between GABA and GABA/benzodiazepine receptor expression in neurons of the visual cortex of the developing rhesus monkey. Abst. Soc. Neurosci.1989. 15/2:1335.

migration during histogenesis of cerebral cortex of the mouse. Nature.

MINA MOLINA CARLOS .Descripción cito arquitectónica de la corteza frontal del ratón recién nacido (P0) .Tesis Universidad del Cauca. Facultad de Educación. 2002.

MOLNAR Z, Et al. C.mechanisms underlying the early establishment of thalamocortical connections in the rat. J Neurosci 1998 aug 1 ; 18 (15): 5723- 45.

MOLLGARD, K. Qualitative synaptic changes with differential experience in rat brain. Int. J. Neurosci.1971. 2:113-128.

MORALES B. Carmen. Lesiones hipoxico-isquémicas del sistema nervioso central en el período perinatal. Rev. Esp. Patol 2002; vol 35, n0 1 :5-20

NORTHCUTT R.G, KAAS J.H. The emergence and evolution of mammalian neocortex. J. Comp Neurol. 1995. 18:373-379.

NOWAKOWSKI, S. R. Cortex: the site of intellectual functions that make us human. Department of neuroscience and cell Biology Robert Wood Johnson Medical School. 1999. Chapter 53.

PADILLA, Marin. Cajal Retzius cells and the development of the neocortex. Trends Neurosci. 1998. Feb 21:64-67. Pag -208-213.

PARNAVELAS, J.G. et al. The contribution of the ganglionic eminence to the neural cell types of the cerebral cortex. Novartis found Symp 2000 228:129-39; discussion 139-47.

\_\_\_\_\_. The growth of non-pyramidal neurons in the visual cortex of the rat: A morphometric study. Brain Res. 1980. 193:373-382.

PAT Levitt, et al. Patterning and specification of the cerebral cortex. Annu. Rev. Neurosci. 1997. 20:1-24.

POLIAKOV, G. I. Development of the cerebral neocortex during first half of intrauterine life. In Development of the Child's Brain. Ed. Leningrad medicina, 1965. pp. 22-55.[In Russian.]

PRICE D.J; LOTTO, R.B Effects of subcortical structures on the growth of cortical neurites in vitro. Neuroport 1996. Apr 7:1185-8.

PUJADES Cristina El premio Rey Jaime I se otorga al Neurobiólogo Eduardo Soriano . Biomedica 2002

R. BEAU LOTTO, Et al. Effects of the thalamus on the development of cerebral cortical efferents in vitro. Journal of Neurobiology, volume 39 , Issue 2, 1999 pages : 186-196.

RAFAEL Yuste . Desarrollo de la Corteza cerebral .Revista investigación y ciencia julio 1994 # 214 pag .62

RAKIC, P. Et al Development and modifiability of the cerebral cortex. Neurosci. Res. Program Bull. 1982. 20 (No. 4). 4:433-436.

\_\_\_\_\_, P. Et al. Supravital DNA synthesis in the developing human and mouse brain. J. Neuropath. Exp. Neurol. 1968. 27:246-276.

\_\_\_\_\_, et al. Concurrent overproduction of synapses in diverse regions of the primate cerebral cortex. *Science*. 1986. 232:232-235.

\_\_\_\_\_. Neurons in rhesus monkey visual cortex: Systematic relation between time of origin and eventual disposition. *Science*. 1974. 183:425-427.

\_\_\_\_\_. Prenatal development of the visual system in the Rhesus monkey. *Phil. Trans. Soc. London B*. 1977. 278:245-260.

\_\_\_\_\_. Specification of cerebral cortical areas. *Science*. 1988. 241: 170-176.

\_\_\_\_\_. Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex  
*J. Comparative Neurology* 1972.145: 61- 84

ROSE, M. Cytoarchitektonischer Atlas der Grosshirnrinde der Maus. *J. Psychol.* 1929. 40:1-51.

S. GHOSH. Cytoarchitecture of sensorimotor areas in the cat cerebral cortex. *The journal of Comparative Neurology*, Volume 388, Number 3, pages 354-370. 24b november 1997.

SARKISOV, S. A. Citoarchiecture of the cerebral cortex. Moscow, Medgiz.1949.

SCHMECHEL, D. E. and RAKIC, P. A rrested proliferation of radial glial cells during midgestationin rhesus monkey. *Nature*. 1979. 277:303-305.

SHATZ, C. J and RAKIC, P. The genesis of efferent connections from the visual cortex of the fetal rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 1981. 287-307.

SMART, I.H. Alocalised growth zone in the wall of the developing mouse telencephalon. *J. Anat* 1985 May 140 (pt3). 394-402.

SMART, I.H.M. and McSHERRY. Growth patterns in the lateral wall of the mouse telencephalon. II. Histological neuron production during and subsequent to the period of isocortical neuron production. *J. Anat.* 1982.134:415-442.

SWANSON, L.W. A direct projection from Ammon`s horn to the prefrontal cortex in the rat. *Brain Res.*1981. 271:150-154.

TAMAMAKI et al. Origin and route of tangentially migrating neurons in the developing neocortical intermediate zone.*J. Neurosci.* 1997. Nov 17:8313-23.

THOMAS Haaf, et al. Quantitative Determination of rDNA Transcription Units in Vertebrate Cells. *Experimental Cell*

VALVERDE F , et al. Time of origin and early fate of preplate cells in the cerebral cortex of the rat. Instituto Cajal (CSIC), Madrid, Spain. *Cereb Cortex* 1995 Nov.-Dec; 5 (6) : 483-93

VAN, Eden and UYLINGS, H.M.B. Citoarchitectonic development of the cortex in the rat. *J. Comp Neurol.* 1985. Vol 241. 241:253-67.

VILLALOBOS J. Y COL. Basal forebrain cholinergic projections to the frontal cortex in mice: A combined acetylcholinesterase histochemistry and retrograde tracer study. *Biological. Research:* 1996, 29:291-296.

\_\_\_\_\_ J; et al. Postnatal development of the basal forebrain cholinergic projections to the medial prefrontal cortex in mice. *Developmental. Brain Research.* 2000, 120:99-103.

VOGT, B.A. and PETERS, A. Form and distribution of neurons in rat cingulate cortex: Areas 32, 24 and 29. *J. Comp. Neurol.* 1981. 195:603-625.

\_\_\_\_\_; Et al Synaptophysin immunohistochemistry reveals inside-out pattern of early synaptogenesis in ferret cerebral cortex. *J Comp Neurol* 1993. Apr 330(1):48-64.

VON Economo, C. Zellaufbau der Grobhirnrinde des Menschen. Springer, Berlin. 1927



WACH HER f ,et al Schwarzacher on te position of nucleolus Organizer Regions (NORs) in interphase Nuclei . Experimental al Research 167, 1986 pag. 227-240.

WALKER, A, E. The medial thalamic nucleus. J. Comp. Neurol.1938. 73:87-115.

WENK, H. V. and MEYER, U. Cholinergic projections from the magnocellular nuclei of the basal forebrain to the frontal cortex of the rat. Brain Res. ReV. 1980. 2:295-316.

WOLFGANG I Streit y Carol A Kinkard - Colton . El sistema inmunitario del cerebro. Investigación y ciencia , enero 1996 # 232

ZECEVIC, N and RAKIC, P. Synaptogenesis in monkey somatosensory cortex. Cortex Cerebral. 1991. 1:510-523.

\_\_\_\_\_. Synaptogenesis in layer I of the human cerebral cortex in the first half of gestation. Cereb Cortex. 1998. 8:245-52.

\_\_\_\_\_; Et al .Changes in synaptic density in motor cortex of rhesus monkey during fetal and postnatal life. Dev. Brain Res, 1989. 50:11-32.