

# PROYECCIÓN DEL NÚCLEO PARAVENTRICULAR HIPOTALÁMICO AL NÚCLEO INTERMEDIO LATERAL Y A LAS CAPAS SUPERFICIALES DE LA MÉDULA ESPINAL

Hurtado Santiago E.<sup>(1)</sup>; Martínez Lorenzana G.<sup>(2)</sup>; Rojas Piloni G.<sup>(2)</sup>; Condés Lara M<sup>(2)</sup>.

(1) Facultad de Química

Universidad Autónoma de Querétaro

(2) Departamento de Neurobiología del Desarrollo y Neurofisiología

Instituto de Neurobiología

Universidad Nacional Autónoma de México.

## RESUMEN:

El PVN cumple una importante función reguladora sobre el sistema nervioso autónomo, varias regiones de la médula espinal están inervadas por el PVN, como el IML. Se realizó una laminectomía a 8 ratas Wistar, a nivel de las vértebras 9-10 torácicas, para descubrir los segmentos torácicos 10 y 11 de la médula espinal. Se inyectaron trazadores neuronales retrógrados, TB y DY, en el IML y CAD respectivamente. Cerebro y médula espinal fueron extraídos, se realizaron cortes de 40  $\mu\text{m}$  y se observaron en un microscopio de fluorescencia con un filtro de UV. Se observaron los sitios de inyección en el IML y CAD de médula espinal y, las neuronas marcadas en el PVN. Se comprobó que el PVN envía colaterales a regiones de la médula espinal, IML y CAD.

## INTRODUCCIÓN:

El hipotálamo juega un papel importante en la regulación de la glándula pituitaria, en el control central de mecanismos autonómicos y en el sistema somatosensorial (Saper y col., 1976; Swanson LW, 1977; Condés-Lara M y col., 2003).

Además, se ha descrito mediante el trazado de vías neuronales que el núcleo paraventricular hipotalámico (PVN) proyecta hacia el núcleo intermedio lateral (IML) (Hosoya y col., 1991) y envía colaterales al menos a las capas superficiales del asta dorsal (CAD) de los segmentos cervicales y lumbares de la médula espinal (Condés-Lara M y col., 2003). Sin embargo, un correlato entre el IML y las (CAD) a nivel torácico de la médula espinal no ha sido descrito. Por lo que el objetivo de este trabajo es demostrar si neuronas del PVN envían colaterales hacia el núcleo IML y CAD en el segmento torácico de la médula espinal.

## MATERIAL Y MÉTODO:

Se utilizaron 8 ratas macho Wistar de un peso de 280 a 300 gramos, se mantuvieron en un ciclo de luz de 12 horas con comida y agua a libre demanda. Todos los animales fueron anestesiados con Xilacina y Ketamina 1:3 y se les realizó una laminectomía a nivel de las vértebras 9-10 torácicas, para descubrir los segmentos torácicos 10 y 11 de la médula espinal. Posteriormente se prosiguió a inyectar los trazadores neuronales retrógrados True Blue (TB) disuelto al 3% en agua destilada y, Diamidino Yellow (DY); se inyectaron mediante presión 20 nl de TB en el IML y se colocó un cristal de DY en las CAD de la médula espinal. Transcurridos 13 días, se sacrificaron los animales realizando una perfusión con solución salina al 0.9% y paraformaldehído al 4% en buffer fosfatos 0.1 M, pH 7.4 (PB). Se extrajo cerebro y médula espinal de cada animal, se

mantuvieron en un período de posfijación en paraformaldehído al 4% en PB durante 2 horas, transcurrido este tiempo de se almacenaron los tejidos en sacarosa al 30% en PB y se mantuvieron en refrigeración hasta que fueron cortados en un micrótopo de congelación. Se realizaron cortes de 40  $\mu\text{m}$ , se obtuvieron 5 series cada 200  $\mu\text{m}$ , de las cuales 3 series fueron montadas en portaobjetos doblemente gelatinizados y 2 almacenadas en pozos de incubación. Una vez deshidratados los cortes de la serie 1 y 2 fueron observados en un microscopio de fluorescencia con un filtro UV; para identificar los sitios de inyección en la zona del IML, las CAD de la médula espinal y las neuronas marcadas en el PVN.

## RESULTADOS:

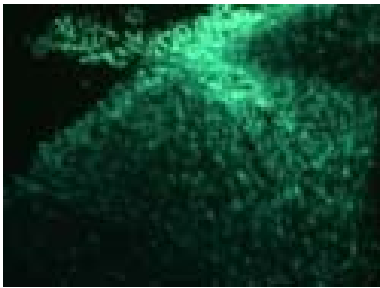


Fig. 1. Sitio de inyección en las CAD de DY a 10x.

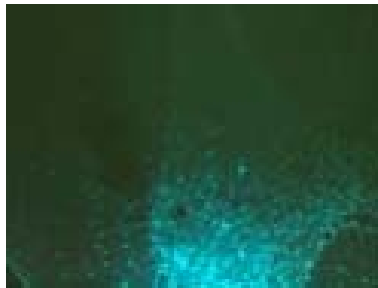


Fig. 2. Sitio de inyección en el IML de TB a 10x.

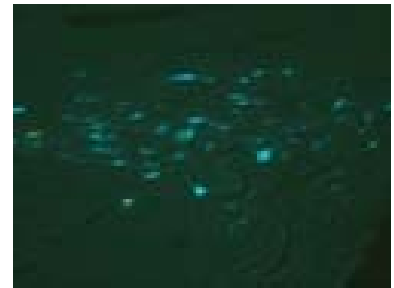


Fig. 3. Neuronas marcadas en el PVN a 10x.

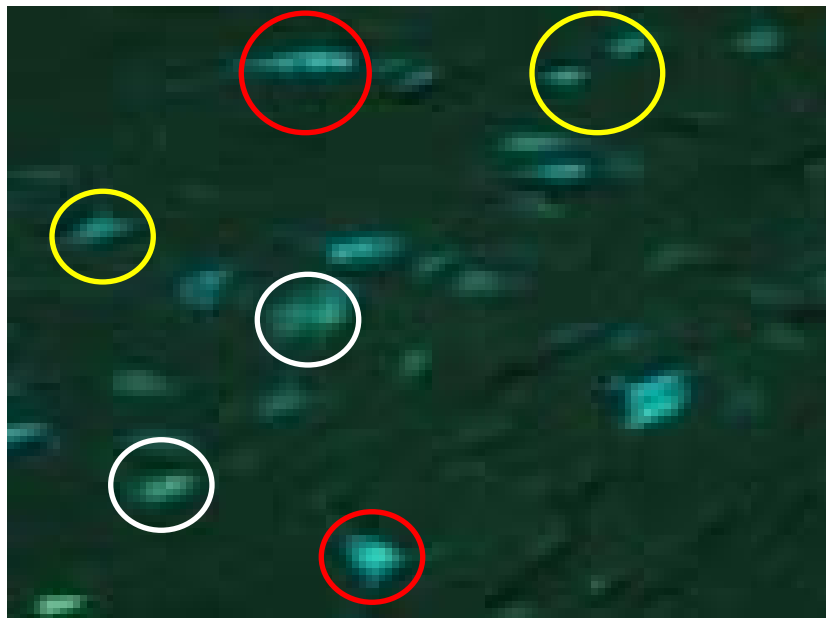


Fig. 4. Neuronas marcadas en el PVN a 20x: a) Neuronas marcadas sólo con TB (círculo amarillo); b) Neuronas marcadas sólo con DY (círculo blanco); c) Neuronas doblemente marcadas TB/DY (círculo rojo).

El IML, es un área de la médula espinal difícil de encontrar y alcanzar, sin embargo, una pequeña, pero bien localizada área del IML, mostró haber sido buen sitio de inyección para TB, fig. 2. Las CAD se observan claramente teñidas con DY en la fig. 1.

El TB es un trazador neuronal retrógrado que tiñe de azul solamente citoplasma, mientras que el DY tiñe en amarillo el núcleo. En el PVN fueron reconocidas zonas dentro del mismo donde existían neuronas azules, marcadas con TB, amarillas, marcadas con DY y doblemente marcadas, siendo reconocidas porque el núcleo era amarillo (DY) y el citoplasma azul (TB), fig. 4.

### **CONCLUSIÓN:**

Estos resultados preliminares muestran que neuronas del PVN proyectan colaterales hacia el IML y CAD de la médula espinal.

Las perspectivas para este trabajo es ampliarlo para comprobar si neuronas del PVN que proyectan hacia el IML y CAD de la médula espinal también son oxitocinérgicas, así como la relación que tiene el PVN con la regulación, transmisión y modulación de los mecanismos endógenos del dolor.

### **BIBLIOGRAFÍA:**

Condés, L. M., González, N. M., Martínez, L. G., Luis, D. O., Freund, M. M., “Actions of oxytocin and interactions with glutamate on spontaneous and evoked dorsal spinal cord neuronal activities”, *Brain Research*, 976, 75-81, 2003.

Hosoya Y., Sugiura, Y., Okado, N., Loewy, A. D., Kohno, K., “Descending input from the hypothalamic paraventricular nucleo to the sympathetic preganglionic neurons in the rat”, *Brain Research*, 85, 10-20, 1991.

Paxinos, G., Watson, C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, London. 1998.

Saper, B. C., Loewy, D. A., Swanson, W. L., Cowan, M. W., “Direct hypothalamo-autonomic connections”, *Brain Research*, 117, 305-312, 1976.

Swanson, L.W. Immunohistochemical evidence for a neurophysin-containing autonomic pathway arising in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Res.* 128, 346-353, 1977.