

La lesión selectiva de neuronas del septum medial induce cambios en la microestructura de las regiones límbicas, alteraciones conductuales y anomalías histológicas en roedores

Garay-Cortes Beatriz Alejandra*; Hiram Luna-Munguía, Deisy Gasca-Martínez; Daniela Coutiño, Mirelta Regalado, Ericka de los Ríos, Paulina Villaseñor, Fernando Hidalgo-Flores, Karen Flores-Guapo, Brandon Yair Benito, Luis Concha
Laboratorio de Conectividad Cerebral (C13), Instituto de Neurobiología, UNAM

*Correo: aleg0102@gmail.com

Introducción: El septum medial es una estructura de sustancia gris que contiene neuronas GABAérgicas, colinérgicas y glutamatérgicas interconectadas que proyectan principalmente hacia la formación hipocámpal a través de la fimbria fórnix, una estructura de sustancia blanca. La integridad de las estructuras de la vía septohipocámpal, así como las subpoblaciones de neuronas que las conforman, son cruciales para realizar tareas de memoria y aprendizaje. Usando técnicas no invasivas, como imágenes de difusión por resonancia magnética, se pueden detectar anomalías en el fórnix que sugieren cambios en el desempeño de tareas cognitivas.

El objetivo de este estudio es investigar la influencia de las lesiones GABAérgicas o colinérgicas del septum medial en los cambios temporales de la microestructura de la sustancia gris y blanca mediante DTI. Se utilizó la inmunotoxina GAT1-saporina y la neurotoxina 192-IgG-saporina para atacar selectivamente las neuronas GABA o colina selectivamente del septum medial, respectivamente. A continuación, se evaluó la relevancia de cada subpoblación neuronal comparando directamente los efectos de las lesiones en diversas tareas cognitivas. Los resultados de las imágenes se compararon, además de pruebas histológicas de neurodegeneración y brotación de fibras musgosas en preparaciones de estos animales.

Método: Se utilizaron 64 ratas macho Sprague-Dawley divididas en diferentes grupos experimentales. Se adquirieron imágenes DTI y T2 in vivo; se escanearon 32 ratas en tres puntos temporales 1) antes de la cirugía (día postnatal 38 (P38), 2) dos semanas después de la cirugía (P56) y 3) una vez que los animales habían finalizado las cinco evaluaciones conductuales (P90). Las regiones de interés (ROI) se delinearon manualmente en el hipocampo dorsal, el hipocampo ventral, la fimbria, el tálamo dorso-medial y la amígdala para los tres puntos temporales.

Se lesionaron selectivamente las neuronas del septum medial y se dividieron aleatoriamente los animales en cuatro grupos según el agente: GAT1-saporina, 192-IgG-saporina, PBS y control (sin cirugía; n=16). Dieciocho días después de la intervención quirúrgica se sometieron a ocho animales por grupo a una batería de pruebas: Laberinto elevado en cruz, campo abierto, rotarod, laberinto en Y, y laberinto de Morris. Otro grupo de siete días después de la cirugía, se perfundieron intracardialmente a dos animales por grupo se extrajeron los cerebros y se fijaron en solución fresca de PFA al 4% durante 24 horas. A continuación, para las tinciones de inmunofluorescencia doble, para determinar la pérdida de neuronas GABAérgicas o colinérgicas. Posteriormente, se eligieron al azar cuatro animales por grupo para azul de toluidina, dos para la tinción de Timm y dos para la tinción de Nissl.

Resultados: Una semana después de inyectar la GAT1-saporina en el septo medial, redujo preferentemente las neuronas GABAérgicas (.73% y .80%) en lugar de las colinérgicas (.40% y .35%). Los animales inyectados con 192-IgG-saporina en el septo medial mostraron una reducción evidente de las neuronas colinérgicas (.89% y .90%) en lugar de las neuronas GABAérgicas (.30% y .35%). La prueba del laberinto elevado mostró que la inyección de 192-IgG-saporina en el septo

medial tuvo un efecto sobre el comportamiento relacionado con la ansiedad de los animales disminuyendo el número de entradas [$F= 3,4$; $p < 0,05$] en los brazos abiertos 3,28) este resultado indica que dañar neuronas colinérgicas del septo medial puede reducir el comportamiento relacionado con la ansiedad en estos animales. Este demuestra que la coordinación no se alteró debido a la lesión del septo medial en los animales inyectados con GAT1-saporina.

El hipocampo dorsal mostró cambios longitudinales en los mapas FA de los animales inyectados con ambas saporinas y los animales inyectados con GAT1-saporina (2 semanas vs 7 semanas post-inyección; .17%, $p < 0,01$) mostraron cambios longitudinales significativos. Se obtuvieron cambios longitudinales en los mapas FA como los observados en el hipocampo dorsal (2 semanas vs 7 semanas post-inyección, .38%, $p < 0,05$). Sólo los animales inyectados con GAT1-saporina (2 semanas vs 7 semanas post-inyección; .22%, $p < 0,01$) mostraron cambios longitudinales significativos. Los animales inyectados con saporina-GAT1 mostraron una reducción significativa del ADC de la fimbria en comparación con los otros tres grupos a las 7 semanas de la inyección (.17%, $p < 0,05$) y los animales inyectados con GAT1-saporina (Línea de base vs 7 semanas post-inyección, .18%, $p < 0,05$ y 2 semanas vs 7 semanas post-inyección .21%, $p < 0,01$) Los mapas FA de los animales inyectados con GAT1-saporina mostraron una reducción significativa (.27%; $p < 0,05$) en el tálamo dorso-medial en comparación con el grupo de control durante el tercer punto temporal. En cuanto al ADC, el mismo grupo mostró cambios longitudinales significativos (2 semanas vs 7 semanas post-inyección .19%, $p < 0,01$) En el caso de la amígdala, los valores de FA y ADC de los animales inyectados con GAT1-saporina mostraron disminuciones significativas al comparar los grupos de 2 semanas y 7 semanas tras la inyección (.29% y .24% respectivamente; ambos $p < 0,05$). Utilizando la tinción de Timm, se observó aumento de la brotación de fibras musgosas en los animales inyectados con la inmunotoxina GAT1-saporina en comparación con los animales de control. Usando la tinción de azul de toluidina reveló que los animales inyectados con la inmunotoxina GAT1-saporina en el septo medial presentaban daños tisulares en la fimbria. Por otro lado, la observación de las secciones teñidas con Nissl reveló daños considerables en el dorsal hipocampo dorsal, tálamo dorso-medial y amígdala de los animales inyectados con GAT1-saporina en comparación con los otros tres grupos.

Conclusión: La integridad de las regiones límbicas pueden representar un precursor de déficits conductuales y cambios histológicos. Nuestros hallazgos apoyan la idea que la modulación del septum medial puede ser un objetivo potencial para mejorar la memoria espacial, las conductas tipo ansiosas y el aprendizaje de animales no lesionados.