

3
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Ciencias

"ESTUDIO MORFOMETRICO DE LOS ISLOTES
DE CALLEJA EN EL DELFIN Stenella attenuata
graffmani"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :
AZUCENA RUTH AGUILAR VAZQUEZ

Asesoras de Tesis: Dra. Sofía Díaz Cintra
Dra. Adela Nieto



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

RESUMEN

..... **I**

INTRODUCCION

..... **1**

DESARROLLO EMBRIONARIO DEL SISTEMA

NERVIOSO CENTRAL..... **1**

CORTEZA OLFATORIA..... **4**

SISTEMA OLFATORIO..... **6**

BULBOS OLFATORIOS **7**

AREA OLFATORIA BASAL..... **8**

AREA OLFATORIA LATERAL..... **11**

AREA OLFATORIA MEDIAL O SEPTAL..... **11**

PROYECCIONES OLFATORIAS..... **12**

ISLOTES DE CALLEJA..... **13**

 ANTECEDENTES..... **13**

 CITOARQUITECTURA DE LOS ISLOTES

 DE CALLEJA..... **13**

 PROYECCIONES..... **15**

DESCRIPCION DEL AREA ENCEFALICA

DE ESTUDIO..... **16**

OBJETIVO	18
HIPOTESIS	19
METODO	20
RESULTADOS	24
DISCUSION	26
CONCLUSIONES	30
REFERENCIAS	32

RESUMEN

La neuroanatomía comparada ha permitido observar los cambios significativos que se han dado en los diferentes grupos de vertebrados, en particular de las funciones olfatorias; las que han disminuido en el transcurso de la evolución y conforme aumentó el grado de telencefalización en los vertebrados superiores, de modo que en animales micrósmicos y el hombre esta área está muy reducida, inclusive se llegan a perder los receptores olfatorios en especies anósmicas como el delfín y otros cetáceos, los cuales no presentan bulbo, tracto y nervio olfatorio, sin embargo poseen lóbulos olfatorios bien representados. Puede asegurarse según estudios neuroanatómicos en diferentes especies anósmicas (Jacobs y Morgane, 1971), que en general las formaciones paleocorticales presentan similitudes fundamentales en cuanto a su organización y distribución con la de otros mamíferos osmáticos.

Los Islotes de Calleja son estructuras características del tubérculo olfatorio y están constituidos por dos poblaciones celulares con fibras monoaminérgicas y reactivas a péptidos, que en los mamíferos como en la rata, sus somas contienen estradiol y acetilcolinesterasa. Por otra parte se conoce que durante el desarrollo son estructuras de origen paleoestriatal más que derivadas de áreas corticales olfatorias. Con base a estos antecedentes, el objeto del presente estudio fué el de localizar y caracterizar los Islotes de Calleja en el delfín, para lo cual se utilizaron cerebros de la especie Stenella attenuata Graffmani y se

realizaron cortes parasagitales en la región frontal, los procedimientos histológicos a los que se sometieron fueron las técnicas de Nissl y Golgi rápido. La localización de los Islotes de Calleja se efectuó con material teñido con la primera técnica, la otra nos permitió observar los tipos celulares que los constituyen. Nuestros resultados se obtuvieron de 7 islotes en los que se midió su área promedio que fluctuó entre $213\mu\text{m}^2 (\pm 88.8)$ y $360\mu\text{m}^2 (\pm 142.7)$ en sus diámetros menor y mayor, se identificaron dos tipos celulares. Células polimórficas de tamaño pequeño cuyo soma midió en promedio de $15\mu\text{m} (\pm 1.13)$ en su eje menor y $21\mu\text{m} (\pm 1.76)$ en sus ejes mayor y células alargadas de $14\mu\text{m} (\pm 1.12)$ y $35\mu\text{m} (\pm 2.44)$ en sus ejes menor y mayor respectivamente. Las células más abundantes en los islotes fueron del tipo polimórfico en una proporción de 3:1.

De estos resultados podemos concluir que si bien es cierto esta especie es anósmica, la presencia de los Islotes de Calleja deberá relacionarse a otras funciones límbicas dado que la población celular encontrada, típicamente corresponde a la de los núcleos funcionales neurosecretorios de este sistema.

INTRODUCCION

Por estudios comparativos del sistema nervioso (SN) en diferentes animales, es posible observar un esquema del desarrollo evolutivo del mismo, desde una simple red de neuronas hasta una organización nerviosa altamente compleja como la que se encuentra en vertebrados superiores y el hombre. El sistema nervioso central (SNC) ha ido adquiriendo mayor tamaño y complejidad como respuesta a la adaptación de los requerimientos de cada grupo animal. Según Wake (1982), las distintas especies reflejan tanto su organización filética como su especialización en el control de las funciones fisiológicas para una integridad ecológica en particular. Así, el conocimiento de la estructura y función del SNC ayuda a comprender la conducta de los organismos y permite establecer una posible interpretación de los mecanismos de adaptación para un medio ambiente adecuado. Es por esto que los estudios comparativos, anatómicos, histológico y electrofisiológico, entre otros, integran de una manera interdisciplinaria los procesos selectivos para la evolución del cerebro y la conducta.

DESARROLLO EMBRIONARIO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Se inicia con la invaginación del ectodermo a lo largo de la región media dorsal del embrión para formar el tubo

neural que en su parte anterior es más ancho y da lugar a las tres primeras regiones encefálicas (vesículas primarias) a partir de las cuales se formará el encéfalo y, la parte posterior del tubo neural originará a la médula espinal. Las diferentes regiones que se desarrollan a partir de las vesículas primarias adquieren una estructura distinta, sin embargo, tanto la médula espinal como el encéfalo conservan el mismo plan estructural fundamental que en sentido rostro caudal son los siguientes:

Prosencéfalo o cerebro anterior, se subdivide en telencéfalo y en diencefalo. El telencéfalo forma a los hemisferios cerebrales e incluye al rinencéfalo o corteza olfatoria y al cuerpo estriado (formado por el núcleo caudado y por el núcleo lenticular, éste último se subdivide en putamen y globus pallidus). También da lugar a una capa de sustancia blanca alojada dentro de los hemisferios y formada por fibras que conectan áreas corticales y subcorticales; las cuales convergen formando una cápsula interna compacta situada entre el tálamo y el cuerpo estriado. El diencefalo origina a las vesículas ópticas y forma al tálamo, epitálamo, hipotálamo y subtálamo.

Mesencéfalo o cerebro medio, forma al pedúnculo cerebral y a los colículos superiores e inferiores.

Romboencéfalo o cerebro posterior, se subdivide en metencéfalo el cual origina al puente y al cerebelo; y en el mielencéfalo que forma a la médula oblongada o bulbo raquídeo.

La parte central del tubo neural se convierte en un sistema de 4 cavidades localizadas como ventrículos, los cuales contienen al líquido cefaloraquídeo y se dividen en dos laterales a cada lado de los hemisferios cerebrales, un tercer y un cuarto ventrículos se comunican entre sí por un acueducto estrecho que atraviesa el cerebro medio (acueducto de Silvio). Las porciones restantes del SN se localizan externamente y constituyen al sistema nervioso periférico (SNP), formado por 12 pares de nervios craneales y un número variable (en los diferentes vertebrados) de nervios espinales dispuestos a lo largo de la médula (Barr y Kiernan, 1986).

Los organismos funcionan de manera coordinada a través de un sistema de comunicación neuronal y por un sistema hormonal. La información es captada en los receptores periféricos y es transmitida a la corteza cerebral por vías aferentes en donde se integran y se interpretan los mensajes periféricos sensoriales.

CORTEZA OLFATORIA.

La corteza olfatoria ha sido de gran interés, debido a que la evolución del telencéfalo en vertebrados ha estado relacionado directamente con el sistema olfatorio (Gordon, 1983). Tiene gran importancia en la organización y evolución neural, ya que es el primer receptor de información a distancia e importante en la adquisición receptiva táctil. Además en el desarrollo, las estructuras olfativas aparecen de manera temprana en el telencéfalo y es notable la constancia de sus conexiones a lo largo de la escala de los vertebrados (Sarnat, 1976).

La corteza olfatoria abarca un área en el encéfalo conocida como lóbulo olfatorio primitivo o rinencéfalo. Fué Kolliker en 1889 (citado por Jacobs /et al./ 1981) quién propuso por primera vez éste término para denominar a la parte basal del telencéfalo, Turner (1891) lo definió en términos de "lóbulo rínico" incluyendo las partes de la zona medial del telencéfalo que están limitadas por una fisura rínica y a los bulbos y tractos olfatorios. Brodal (1963) incluyó estructuras del sistema nervioso central tomando en cuenta a otros sistemas neuronales, entre las que se encuentran el tubérculo olfatorio, la banda diagonal de Broca, el núcleo amigdaloides cortical, el lóbulo piriforme, el septum y el hipocampo.

Desde el punto de vista filogenético se le considera constituido por dos formaciones corticales, la paleocorteza que incluye el área olfatoria basal (tubérculo y banda diagonal de Broca) y la arquicorteza constituida por las áreas dentada, hipocámpal y subicular. Estas dos formaciones se encuentran unidas anteriormente por el área septal y posterolateralmente se continúan en la porción uncal de cada hemisferio.

En los diferentes grupos de mamíferos se puede observar un mismo patrón estructural, a excepción de algunos mamíferos marinos del suborden Odontocetos, que carecen de estructuras periféricas olfatorias (bulbos, nervios y tractos olfatorios) y a los cuales se les ha denominado anósmicos (sin función olfatoria).

Los estudios realizados en estos animales, han contribuido de manera importante para integrar criterios acerca de las estructuras que están involucradas en las funciones olfatorias o bien en los mecanismos de emoción y motivación. Según Nieto y Nieto (1978), el hecho de que éstos animales pierdan las estructuras olfatorias periféricas, representa un avance distintivo para la interpretación de la posible significancia funcional del cerebro olfatorio en los mamíferos. Además, se conoce que la mayor parte del cerebro anterior de los mamíferos no tiene función olfatoria, incluso en especies de no mamíferos solo a

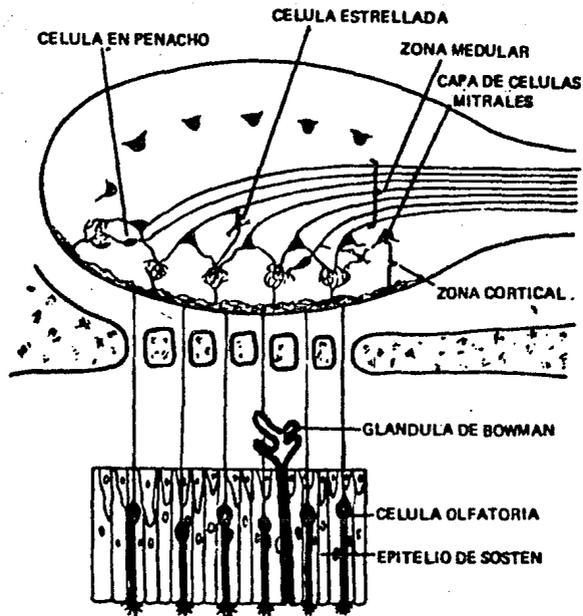


Fig. 1. Componentes celulares de la mucosa olfatoria (MO) y del bulbo olfatorio (BO) en los mamíferos. (Esquema modificado de Barr, 1975).

una pequeña parte se le atribuye esta función, el resto se relaciona con la emoción o con funciones reguladoras neuroendocrinas, por lo que el término de rinencéfalo ha sido en general descartado y ha pasado a formar parte del sistema límbico (Ganong, 1986).

SISTEMA OLFATORIO

El olfato es un sentido visceral debido a su asociación con las funciones gastrointestinales, los receptores olfativos son quimiorreceptores a distancia (telereceptores) y fisiológicamente están relacionados con el sentido del gusto, pero a diferencia de éste las vías olfativas no suben por el tallo cerebral a el tálamo y no se conoce un área de proyección neocortical (Ganong, 1986).

En los vertebrados osmáticos (capaces de percibir los olores), se ha diferenciado un par de cavidades nasales y un epitelio sensorial olfatorio. Este epitelio se localiza en el techo de las cavidades nasales y está formado por células nerviosas receptoras, las que se encuentran protegidas por un epitelio pseudoestratificado. Además las glándulas de Bowman bañan a la mucosa olfatoria, con el líquido seroso, en donde las sustancias odoríficas se disuelven. Las células receptoras son neuronas bipolares que tienen prolongaciones periféricas con cilios sensoriales y sus conexiones convergen en los nervios olfatorios, atraviesan la lámina cribosa del etmoides y penetran al bulbo olfatorio, terminado en los

glomérulos sinápticos en contacto con neuronas del bulbo (Fig. 1).

BULBOS OLFATORIOS

Los bulbos olfatorios son prolongaciones telencefálicas que constan de tres capas o zonas básicas (Figs. 1 y 2).

1. La zona cortical, es donde se llevan a cabo las primeras sinápsis. En esta zona las dendritas de las células mitrales terminan en configuraciones sinápticas (glomérulos), en donde convergen millares de axones de las células receptoras olfatorias, y constituyen el nervio olfatorio.

2. La capa de las células mitrales, es donde cada célula contribuye con sus dendritas para la formación de varios glomérulos.

3. La capa medular, la componen los axones que salen de las células mitrales y que pasan através del tracto a las estrias olfatorias, intermedia y lateral hacia la corteza, terminando en las dendritas apicales de las células piramidales de la corteza olfatoria y en comunicación directa con el tubérculo olfatorio, la corteza piriforme, núcleo olfatorio anterior, el núcleo amigdalino y la corteza entorinal transicional (Barr y Kiernan, 1986).

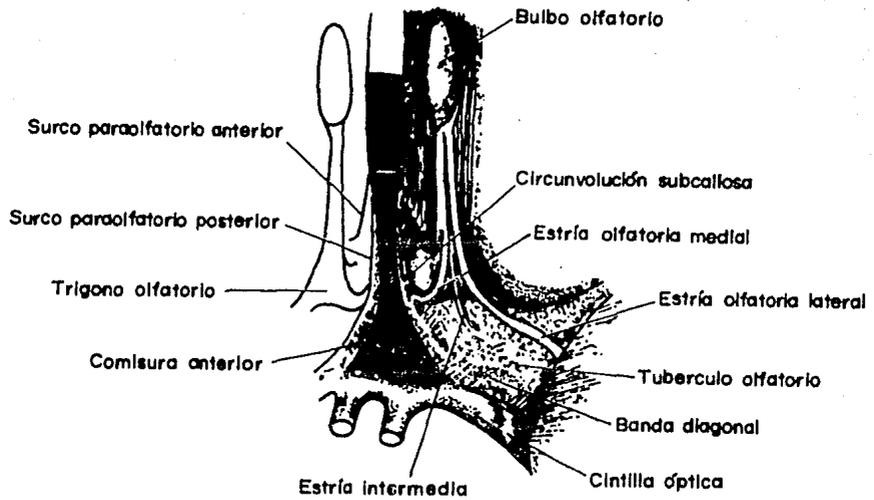


Fig. 2. Esquema de los bulbos olfatorios y del área olfatoria basal
 (Modificado de Truex, R.C., 1969)

AREA OLFATORIA BASAL

Se le denomina en los mamíferos, tubérculo olfatorio o substancia perforada anterior, debido a la penetración de muchos vasos sanguíneos pequeños a ésta región. Está situada en la base del telencéfalo justamente detrás del trigono olfatorio, recibe fibras directamente del bulbo, aunque se conoce que sólo en su parte anterior tiene conexiones olfatorias y en la parte posterior está relacionada con los núcleos preópticos e hipotalámicos. También incluye a la banda diagonal de Broca, identificada como una banda de fibras que cruzan en forma diagonal desde el área septal a el uncus, y está formada por fibras que conectan a las diferentes regiones de la corteza olfatoria (Fig. 2).

Las primeras descripciones del tubérculo olfatorio fueron hechas en mamíferos macrosmáticos (aquellos que dependen del sentido del olfato para su información del medio que los rodea) por Ganser (1882); Calleja (1893) y Ramón y Cajal (1955). De acuerdo con estos autores el tubérculo olfatorio consta de tres capas, y por su patrón laminar se le considera como una estructura cortical.

1) La primera capa es la superficial externa, llamada capa molecular o plexiforme, por lo general es gruesa tanto lateral como medialmente.

2) La segunda está mejor definida morfológicamente y contiene neuronas medianas consideradas como células

piramidales, pero que en impregnaciones de Golgi se muestran como estructuras atípicas e irregulares distintas de las células piramidales de otras regiones corticales (Bayer, 1985). En esta capa se localizan conjuntos celulares conspicuos denominados Islotes de Calleja (IC). Esta segunda capa está ausente en la pared interhemisférica medial del tubérculo y es más prominente en la sección intermedia del tubérculo a lo largo de la base del telencéfalo y es regular en la zona de transición lateral entre el tubérculo y la corteza piriforme.

3) La tercera capa contiene células polimórficas de talla pequeña y mediana, las que se encuentran espaciadas dando una apariencia estriada.

La consideración de que el tubérculo olfatorio sea una estructura cortical bien definida, no está aceptada universalmente. Desde los trabajos de Crosby y Humprey en 1941 y Alison en 1954 (citado por Meyer y Whale, 1984), se observa que en animales microsmáticos (el olfato es menos importante que otros sentidos), como son los primates y especialmente en el cerebro humano, no presentan una organización cortical clara, sino una pequeña banda cortical. Blackstad (1967) y Pigache (1970) argumentaron que el tubérculo no tiene una organización tangencial y radial definida, por lo que no puede ser parte de la corteza cerebral.

Por otra parte, estudios recientes en el cerebro de rata muestran que el tubérculo olfatorio es una estructura en la que se presentan características morfológicas e histoquímicas del estriado, por lo que es considerado como una extensión ventral de éste (Heimer y Wilson 1975; Heimer, 1978; Newman y Winans, 1980; Switzer et al. 1982; Haber y Nauta, 1983), lo que ha permitido incluirlo en el sistema estriado-palidal ventral y a la vez relacionado con el sistema estriado-palidal dorsal (Heimer et al. 1982). Hedreen en 1981 observó que el tubérculo olfatorio presenta características en común con los núcleos acumbens, caudado y el putamen pero con una estructura mucho más compleja y con más variedad en tipos celulares lo que indica una mayor organización sináptica.

De las investigaciones estructurales que se han realizado con técnica de Golgi para el examen de los elementos neuronales del tubérculo, destacan los trabajos de Millhouse y Heimer (1984) en la rata y los de Meyer y Wahle (1996) en gato, quienes observaron el arreglo espacial de los diferentes tipos neuronales. Además, con las técnicas inmunocitoquímicas concluyen que el tubérculo olfatorio se encuentra dividido en dos componentes principales, una parte cortical organizada en tres capas, la cual es más prominente en la parte lateral del tubérculo olfatorio seguida de una región en la que la estructura cortical no es reconocible.

AREA OLFATORIA LATERAL

Es la región principal de la recepción de los estímulos olfatorios por lo que se le llama área olfatoria primaria. Recibe fibras aferentes desde el bulbo olfatorio a través de la estria lateral, incluye al uncus en el lóbulo temporal, a la región del límen insulae y a una parte del núcleo amigdalino, el cual es un complejo neuronal, cuya porción dorsomedial se continua con la corteza del uncus y recibe fibras olfatorias, mientras que otra porción ventromedial más grande del mismo, está comunicada a la neocorteza temporal, el núcleo dorsomedial talámico, y otras regiones del tálamo, hipotálamo, núcleo del rafe, núcleo del tracto solitario y otras regiones del tallo. Las tres capas corticales del uncus se fusionan con las capas del giro del hipocampo, el cual en su parte anterior se denomina área entorinal y funciona como corteza olfatoria de asociación a través de conexiones con otras áreas de la corteza del lóbulo temporal.

AREA OLFATORIA MEDIAL O SEPTAL

Se encuentra en la cara medial del lóbulo frontal, debajo de la rodilla del cuerpo calloso y delante de la comisura anterior. Recibe fibras olfatorias a través de la estria olfatoria medial y se conecta con otras áreas olfatorias a través de la banda diagonal de Broca. Está

estrechamente relacionada con el sistema límbico. Sus principales conexiones se establecen con el hipocampo y con otras proyecciones aferentes con el locus coeruleus, los núcleos del rafe, las áreas tegmentales, el núcleo fastigiado, el hipotálamo, el cuerpo mamilar, la substancia negra, la circunvolucion del cíngulo y la amígdala (Fig. 3).

PROYECCIONES OLFATORIAS

Las vías fundamentales, que transmiten impulsos olfatorios desde las áreas corticales secundarias en los hemisferios cerebrales hacia el diencéfalo; en donde se inicia la actividad visceral, son el haz procencefálico y la estria medular. El haz procencefálico es un pequeño fascículo que atraviesa el área lateral del hipotálamo, proporcionando fibras a los núcleos hipotalámicos. Algunas fibras continúan hasta el tallo cerebral (fibras olfatotegmentales) para la distribución en los núcleos vegetativos, incluyendo a los núcleos salivatorios, el núcleo motor dorsal del nervio vago y los centros vegetativos de la formación reticular. La estria medular del tálamo corre a lo largo del borde dorsomedial del tálamo y termina en el núcleo habenular. Esta vía continua hasta el núcleo interpeduncular, luego al núcleo tegmental dorsal y finalmente a los núcleos vegetativos del tallo cerebral, a través del fascículo longitudinal medial (Barr y Kiernan, 1966) (Fig. 4.)

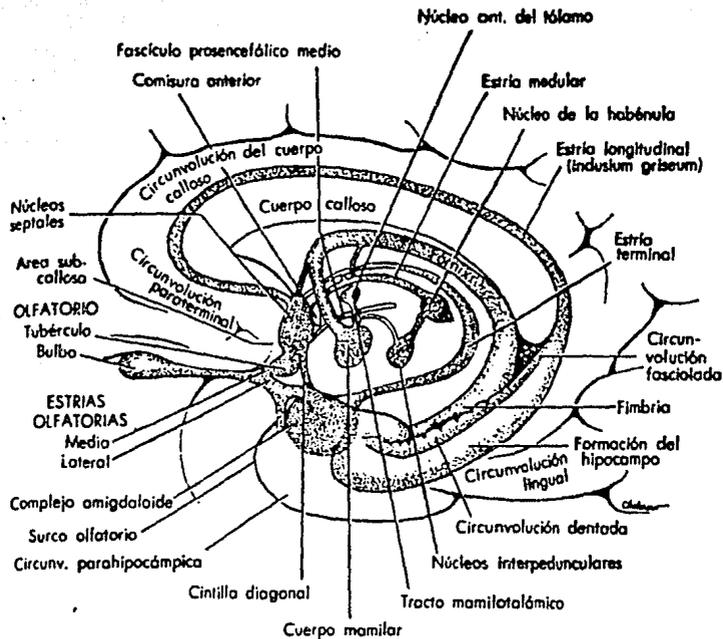


Fig. 3. Proyecciones del sistema límbico (modificado de Truex, 1969).

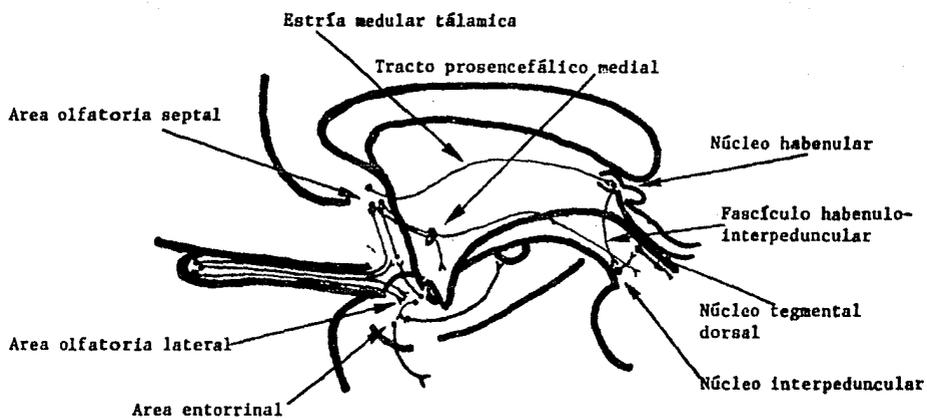


Fig. 4. Proyecciones de la corteza olfatoria (Modificado de Barr, 1986).

ISLOTES DE CALLEJA

ANTECEDENTES

Los Islotes de Calleja (IC), son cúmulos celulares que se encuentran empaquetados en la capa polimórfica del tubérculo olfatorio y a lo largo del borde dorsomedial del núcleo acumbens. Dan una apariencia ondulante en la porción anterior del tubérculo. Fueron descritos por primera vez por Calleja en 1893, quién hizo una descripción detallada de ellos, como una característica distintiva del tubérculo. Son estructuras filogenéticamente constantes, ya que se les ha encontrado en diferentes mamíferos: en roedores (Hosoya, 1973; Creps, 1974; Fallon *et al.* 1978; 1983; Fallon y Riback, 1980; Riback y Fallon, 1982; Riback *et al.* 1983; Millhose y Heimer, 1984; Bayer, 1985), en marsupiales (Obenchain, 1925. Citado por Hosoya, 1973), en felinos (Talbot *et al.* 1985; Meyer y Whale, 1986), en carnívoros (Fox *et al.* 1940; Lauer, 1945), en primates (Snider y Lee, 1961), en el hombre (Humphrey, 1967) y en cetáceos (Bretnach, 1953., Jacobs *et al.* 1971; Morgane y Jacobs, 1972; Nieto y Nieto, 1986).

CITOARQUITECTURA DE LOS ISLOTES DE CALLEJA

Una descripción citoarquitectónica realizada por Fallon *et al.* (1978), mostró que en la rata están presentes

8 islotes en el tubérculo olfatorio y uno de mayor tamaño, en la insula magna, entre el septum, el núcleo acumbens y núcleo de la banda diagonal.

Están constituidos por dos poblaciones celulares, un tipo de células pequeñas o estrelladas y otro de células grandes polimórficas. Por las observaciones de Hosoya (1973) al microcopio electrónico, se sabe que el soma granular pequeño mide entre 7-9 μm y su núcleo, abarca las tres cuartas partes de la célula. Presenta un citoplasma escaso, además de uniones especializadas de aposición somal similares a las presentes en las células granulares inhibitorias del bulbo olfatorio. El axón terminal raramente forma sinapsis con el soma de las células granulares, sin embargo, hace contacto con dendritas y espinas dendríticas. Las células grandes polimórficas se encuentran en menor número, en el centro de cada islote, y están rodeadas de células granulares, o también se localizan en el margen dorsal del islote. Su citoplasma presenta numerosos organelos, el axón terminal cubre la superficie del soma y forma uniones sinápticas simétricas (Hosoya, 1973)

PROYECCIONES

Los Islotes de Calleja hacen contacto con fibras provenientes del bulbo olfatorio y a su vez envían proyecciones a otras áreas corticales. En estudios realizados utilizando técnicas de fluorescencia histoquímica, (Fallon *et al.* 1978; Dawson *et al.* 1986; Phelps y Vaughn, 1986; Charuchinda *et al.* 1987) se sabe que son estructuras con alta densidad de receptores DOPA y acetilcolinérgicos, además de que sus proyecciones están topográficamente organizadas e interconectadas con células dopaminérgicas provenientes del área tegmental ventral, de la sustancia negra y a la vez conectadas con estructuras límbicas, el septum, el núcleo acumbens, la amígdala y la corteza piriforme (Fallon *et al.* 1978) (Figura 5.)

Así también los islotes contienen fibras de neuroactividad peptídica como son leu-encefalinas, met-encefalinas, sustancia P, colisistoquinina, hormona luteinizante, hormona liberadora y células grandes y medianas que concentran estradiol. Debido a su morfología, a sus conexiones y a la relación con neurotransmisores, Fallon *et al.* (1983) sugieren que éstas estructuras reflejan al sistema clásico estriado-palidal y que la presencia de las sustancias involucradas en el sistema endócrino de la reproducción (hormonas luteinizante y liberadora y células ligadoras de estradiol), los involucra en el sistema

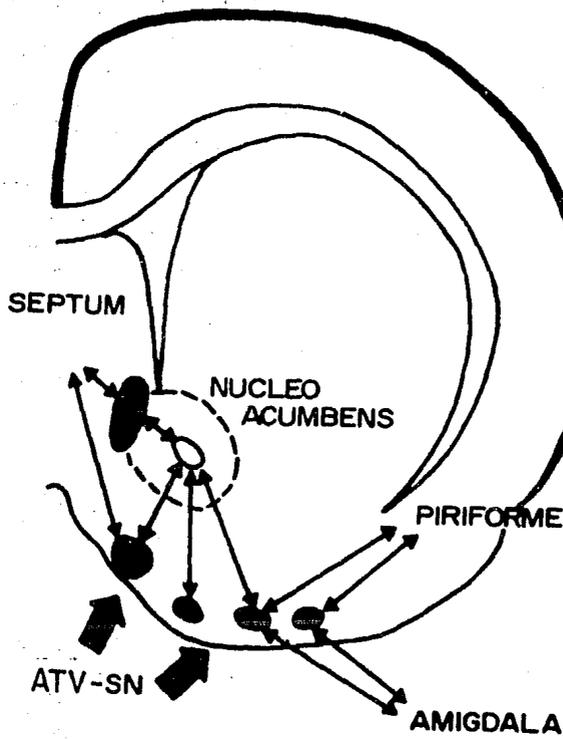


Fig. 5. Esquema de un corte frontal del cerebro de rata y las interconexiones entre los Islotes de Calleja y las estructuras del cerebro anterior basal. Área tegmental ventral (ATV); sustancia negra (SN). (Tomado de Fallon et. al. 1978)

endocrino corticoestriatopallial.

Por otra parte, los Drs. Nieto y Nieto (1986), sugieren que los Islotes de Calleja en el delfín se encuentran involucrados en el sistema límbico, formando parte del siguiente circuito: Islotes de Calleja a la estria medular, al núcleo habenular, al núcleo interpeduncular, al núcleo tegmental dorsal, al haz anteromedial, al septum y a los Islotes de Calleja (Fig. 6).

DESCRIPCION DEL AREA ENCEFALICA DE ESTUDIO

ANTECEDENTES

Los cetáceos se encuentran divididos en dos grandes grupos: el suborden Mysticeti o cetáceos con barbas y el suborden Odontoceti que comprende los cetáceos dentados. De los estudios neuroanatómicos realizados en Odontocetos, desde hace más de cuarenta años, se sabe que sólo en su estado fetal presentan los bulbos, nervios y tractos olfatorios; los cuales no persisten en estado adulto (Brethnach, 1953; 1955; Sinclair, 1966; Pilleri y Wandeler, 1970), sin embargo, los diferentes estudios anatómicos realizados en estas especies anósmicas permiten asegurar que, en general, las formaciones paleocorticales presentan similitudes

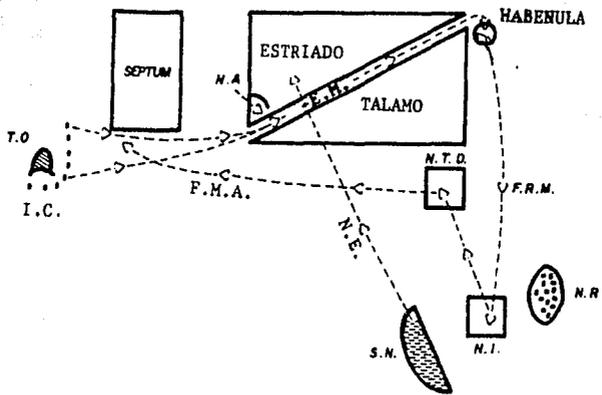
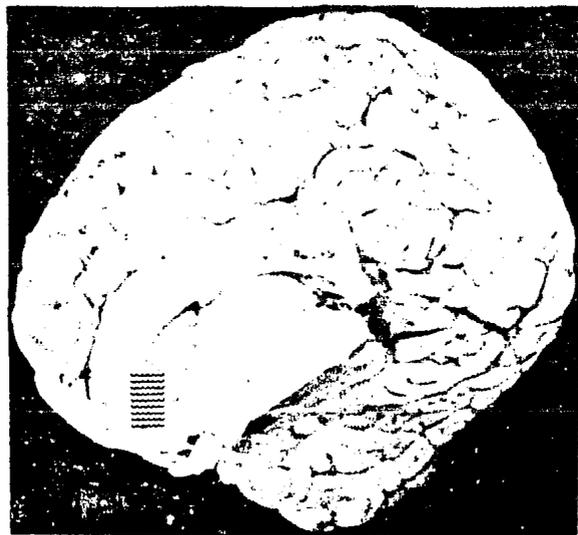


Fig. 6. Esquema que muestra la relación de los Islotes de Calleja con las estructuras límbicas. TUBERCULO OLFATORIO (T.O.), ISLOTES DE CALLEJA (I.C.), ESTRIA MEDULAR (E.M.), FASCICULO RETROFLEJO DE MEYNERT (F.R.M.), NUCLEO INTERPEDUNCULAR (N.I.), NUCLEO ROJO (N.R.), SUSTANCIA NEGRA (S.N.), VIA NIGRO-ESTRIATAL (N.E.), NUCLEO TEGMENTAL DORSAL (N.T.D.), NUCLEO ACUMBENS (N.A.), FASCICULO MEDIAL ANTERIOR (F.M.A.). (Según Nieto y Nieto, 1986).

A

5 cm.

B

5 cm.

Fig. 7. Fotografías de los cerebros cerebrales del delfín *Stenella attenuata*, mostrando los lobulillos olfatorios. En A vista basal (marcados con asteriscos). En B, vista medial, (área sombreada). Tomado de Hietala y Hietala, 1977.

fundamentales en cuanto a la organización y distribución en otras especies de mamíferos (Jacobs et al. 1971).

A diferencia de los Odontocetos, los Mysticetos si presentan estructuras olfatorias periféricas en estado adulto. Se tienen reportes en especies tales como Megaptera novaeangliae (Bretnach, 1955); Balenoptera physalus y B. borealis (Jacobs et al. 1971). Además, se le ha encontrado en estado fetal (Morgane y Jacobs, 1972).

Un análisis macroscópico en el cerebro del delfín Stenella attenuata graffmani fué realizado por los Drs. Nieto y Nieto (1973) (Fig. 7), quienes reportaron que carece de bulbo y cintilla olfatoria y que en general presentan similitudes estructurales anatómicas con otros delfines tales como el Tursiops truncatus. En este último, Jacobs en 1972 había observado que los lóbulos olfatorios se diferencian en un área cuadrangular sobre la superficie basal del cerebro anterior (Fig. 8) y rodeados por una serie de sacos interconectados entre sí formando una hendidura limitante conocida como fisura rinica. Los límites son: Medialmente, por un saco rinial anterior (SRA) desde el lóbulo orbital en el área paraolfatoria de Broca; en sentido anterolateral, se encuentran separados por sacos provenientes del lóbulo orbital y de la ínsula respectivamente; en sentido posterolateral, está limitado por un saco rinial posterior (SRP) del borde parahipocampal

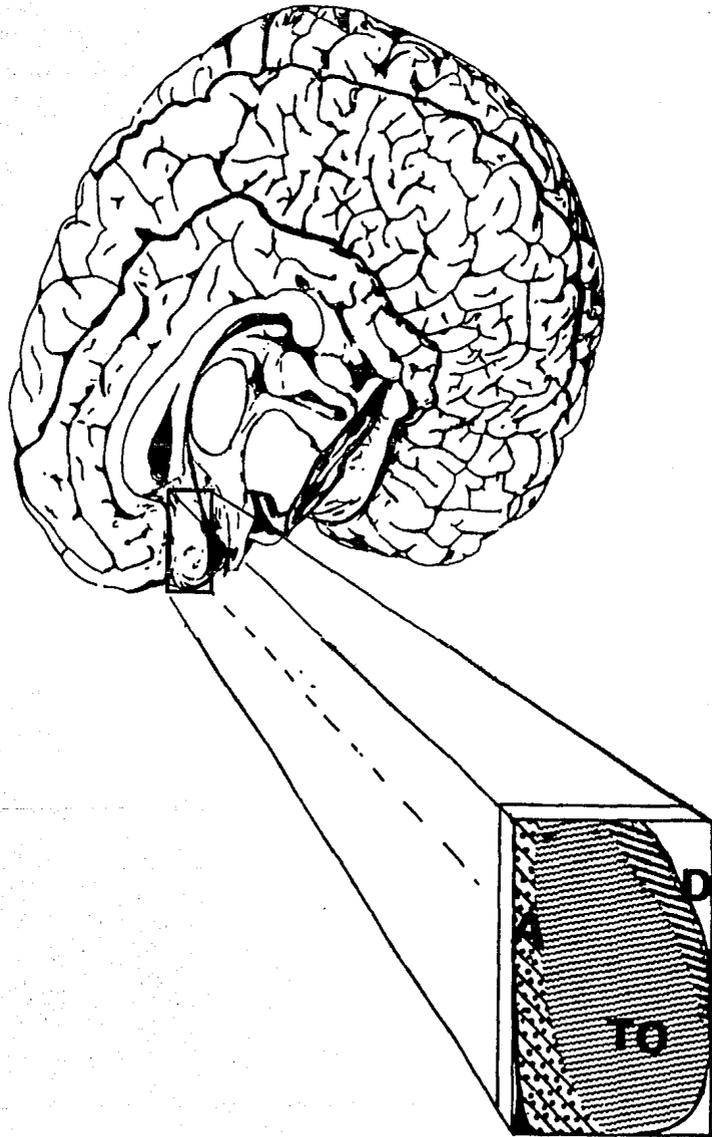


Fig. 8. Esquema que muestra un corte sagital en el área tubercular del cerebro del delfín, de donde se obtuvo el tejido para el estudio. Tubérculo olfatorio (TO), Núcleo accumbens (A) y Banda diagonal de Broca (D).

del lóbulo temporal y posteriormente los lóbulos olfatorios están separados del pedúnculo cerebral y del hipotálamo por el saco telodiencefálico y por el tracto óptico (Fig. 9).

El área basal de los lóbulos olfatorios está constituida por el área diagonal (D), el giro olfatorio lateral (GOL) y el área tubercular (T). Esta última es prominente y se encuentra bien delimitada en forma oval y en plano posterior y lateral, se localiza como un área extensa, la cual exhibe numerosas perforaciones vasculares características de la sustancia perforada anterior. Además, en ésta área se puede observar la inervación interna de la cabeza del núcleo caudado, y en general ocupa un área muy grande en comparación con el área uncal (Fig. 9).

OBJETIVO

Debido a que existen pocos estudios anatómicos del tubérculo olfatorio y en particular, de los Islotes de Calleja en los delfines, utilizando la técnica de Golgi, el objeto del presente estudio fué el de localizar y describir anatómicamente, los tipos celulares que configuran a los Islotes de Calleja en el delfín moteado, Stenella attenuata graffman.

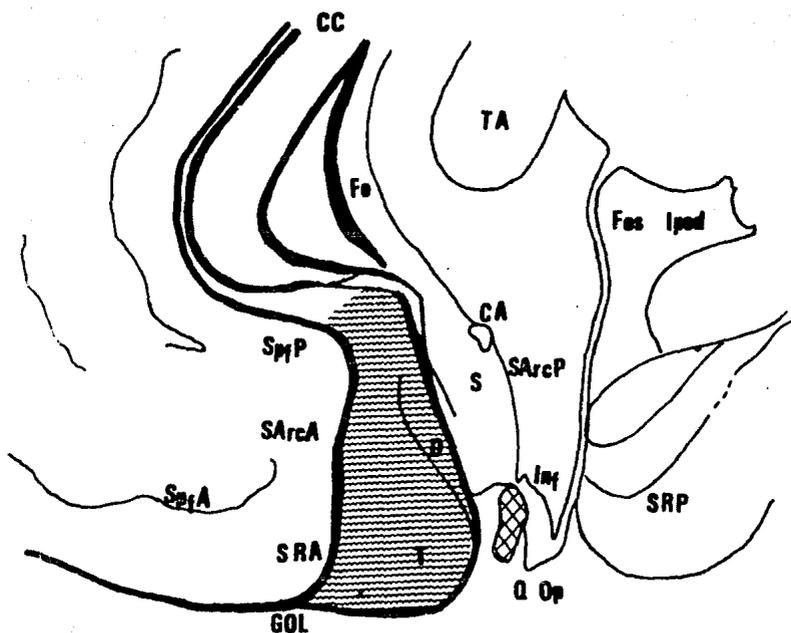


Fig. 9. Diagrama de una vista medial del cerebro del delfin, que corresponde al área sombreada en la fotografía 5b, y muestra las relaciones del lóbulo olfatorio (pantalla) con las estructuras que lo rodean: AREAS TUBERCULAR (T), DIAGONAL (D) Y SEPTAL (S), GYRO OLFATORIO LATERAL (GOL), SACO ARCUATO ANTERIOR (SArcA) Y POSTERIOR (SArcP), SACO PARAOLFATORIO ANTERIOR (SpfA) Y POSTERIOR (SpfP), SACO RINEAL ANTERIOR (SRA) Y POSTERIOR (SRP), INFUNDIBULO (Inf), QUIASMA OPTICO (Q Op), COMISURA ANTERIOR (CA), CUERPO CALLOSO (CC), FORNIX (Fo), TALAMO (TA), FOSA INTERPEDUNCULAR (Fos Iped). Esquema modificado de Jacobs, 1971.

HIPOTESIS

Por otra parte, dada la importancia anatómica y funcional de los Islotes de Calleja en el cerebro de Stenella attenuata graffmani, se planteó la siguiente hipótesis de trabajo: Si los odontocetos, especies anósmicas, presentan Islotes de Calleja que son elementos constitutivos del sistema olfatorio, entonces deberá relacionarse con otras funciones de naturaleza límbica y la descripción anatómica de ellos permitirá una mejor interpretación de los mismos.

METODO

En el presente estudio se utilizaron dos cerebros de delfin, cuya clasificación es la siguiente:

Phylum Chordata

Subphylum Vertebrata

Clase Mammalia

Orden Cetácea

Suborden Odontoceti

Familia Delfinidae

Genéro Stenella

Especie S. attenuata

Subespecie S. a. graffmani

Los delfines fueron colectados en Bahía Banderas, Jal. Méx., por los doctores Nieto y Nieto en 1982 y sus cerebros fueron fijados en formol al 10% durante varios años. Se tomaron dos bloques del área basal de los hemisferios cerebrales y se procesaron con dos técnicas histológicas; Nissl y Golgi rápido. La primera nos permitió la localización del área de estudio y la segunda como tiñió a las neuronas completas, con dendritas y espinas se pudo realizar un estudio cualitativo y cuantitativo de la población celular, así como de la clasificación neuronal de los Islotes de Calleja.

El procedimiento que se siguió para la tinción de Nissl es como sigue: Primero se seccionó una porción paramedial de la región anterior basal del cerebro del delfín, de 2 cm de grosor, tal como se muestra en el esquema de la figura 8.

Dicha porción se lavó durante 24 horas y luego se deshidrató en alcoholes graduales de 50%, 70%, 80%, y alcoholes etílico de 96% y absoluto, durante una hora cada cambio. La pieza se colocó después en una mezcla de alcohol-xilol y un cambio de xilol puro hasta que tomó una tonalidad amarillenta. Después se procedió a la inclusión de un baño de parafina durante 2 horas a 56° C. Los bloques conteniendo al tejido fueron fijados con calor a una platina, la que a su vez se colocó en el microtomo de deslizamiento. Se obtuvieron cortes en plano sagital de 20 μ m, los cuales se colectaron por flotación en un baño maría que contenía una solución de grenetina al 2% y a una temperatura de 55° C. Los cortes se montaron de inmediato en laminillas portaobjetos las cuales se dejaron secar en la estufa a 40° C durante 20 min. Para la tinción los cortes se hidrataron pasándolos dos veces por xilol y alcoholes graduales. Desde el alcohol etílico absoluto hasta el de 70% durante 10 min en cada cambio, luego se pasaron a alcohol 80% acidulado, se lavaron y se tiñieron en una solución de violeta de cresilo al 0.1% durante 15 minutos. Luego se lavaron en agua destilada y se deshidrataron en alcoholes graduales de 70% al 96% hasta su diferenciación (viración del violeta a un color

azul), posteriormente se aclararon en dos cambios de terpineol y de xileno para finalmente ser montados en resina sintética. Obtenidas así las preparaciones que contenían el área objeto de estudio, se procedió a su selección e identificación de los Islotes de Calleja.

Con la técnica de Golgi rápido, se cortaron bloques de 5 mm de grosor en un plano parasagital (Fig. 8), los que se colocaron en una solución de dicromato de potasio al 2.5% y ácido ósmico al 1% en una proporción de 8:1 respectivamente. Los bloques se dejaron en la obscuridad por espacio de 8 días; pasado este tiempo, se quitó el exceso de la solución con papel filtro y se diferenciaron en una solución de nitrato de plata al 0.75% hasta no haber precipitaciones y permanecieron en esta solución durante 24 horas. Después se lavaron durante 30 minutos en agua destilada y se procedió a cortar secciones de 100 a 120 μ m de grosor, al microtomo de congelación y cada corte se lavó en agua destilada dos veces y luego se deshidrató en alcoholes graduales desde 70% hasta etílico absoluto durante 30 minutos cada uno. Finalmente se pasó a dos cambios de xileno durante una hora y se montaron en resina sintética 2 cortes por cada laminilla.

Para el estudio anatómico comparativo de los islotes de Calleja, se utilizó un método morfométrico, para el cual se seleccionaron sólo las preparaciones que contenían los Islotes de Calleja. Las observaciones se realizaron bajo un

microscopio fotónico de campo claro, marca Zeiss con óptica planopocromática, con un objetivo de 40 X de inmersión, cuya apertura numérica fue de 1.0 y un poder de resolución de 0.25. Las células observadas en los islotes, fueron medidas en sus ejes mayor y menor del soma, para los cual se utilizó una retícula ocular previamente calibrada en micrones y con la ayuda de una cámara lúcida se dibujaron varios Islotes de Calleja, así como sus elementos neuronales. Finalmente, se tomaron fotomicrografías a distintos aumentos de las neuronas representativas de cada islote (Fig. 10 - 17)

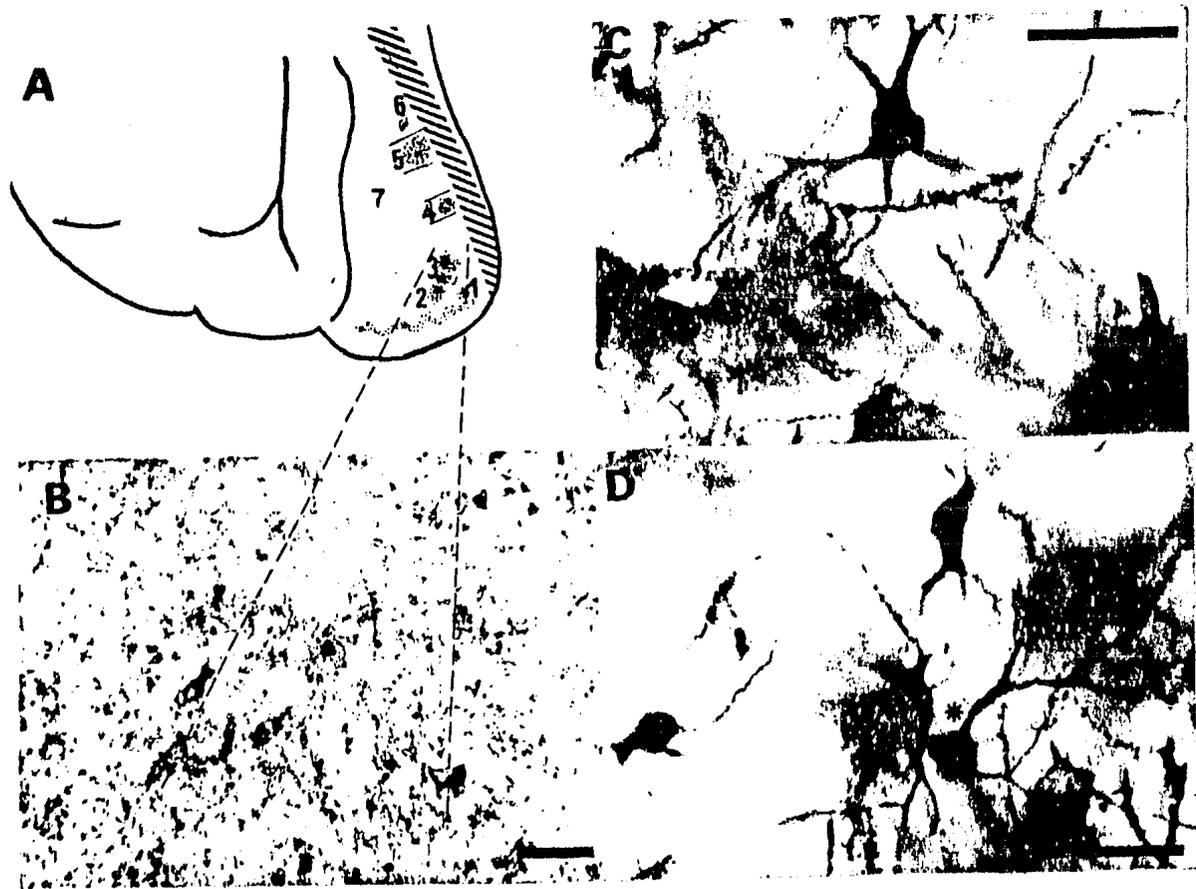


Fig. 10. A) Esquema que muestra la localización de los islotes de Calleja (1-7) en el tubérculo olfatorio del cerebro del delfín. Núcleo acumbens (NA), Banda diagonal (D). B) Fotomicrografía del Área tubercular a 100 aumentos, señalando el Área correspondiente en el esquema (la barra indica 100 µm). C y D son células polimórficas pequeñas a 360 aumentos que corresponden al islote No. 11; con asterisco se marca la posición neuronal (las barras indican 50 µm).

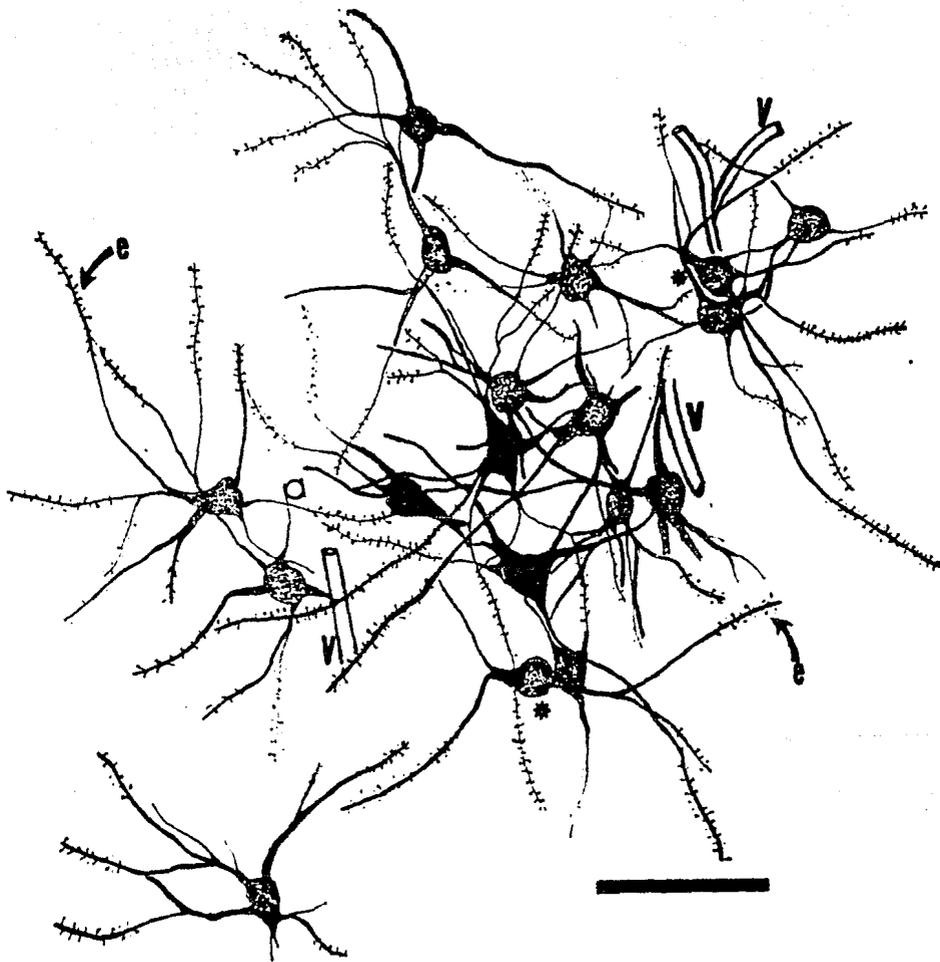


Fig. 11. Dibujo elaborado con la cámara lucida a 400 aumentos y corresponde al islote No. 1 señalado en el esquema 9A, en donde se muestran dos tipos de células: polimórficas pequeñas (punteadas) y células alargadas de mayor tamaño (obscuras). Nótese la aposición neuronal marcada con un asterisco, la densidad de las espinas (e), los vasos sanguíneos (v) y los axones (a). La barra indica 50 μ m.

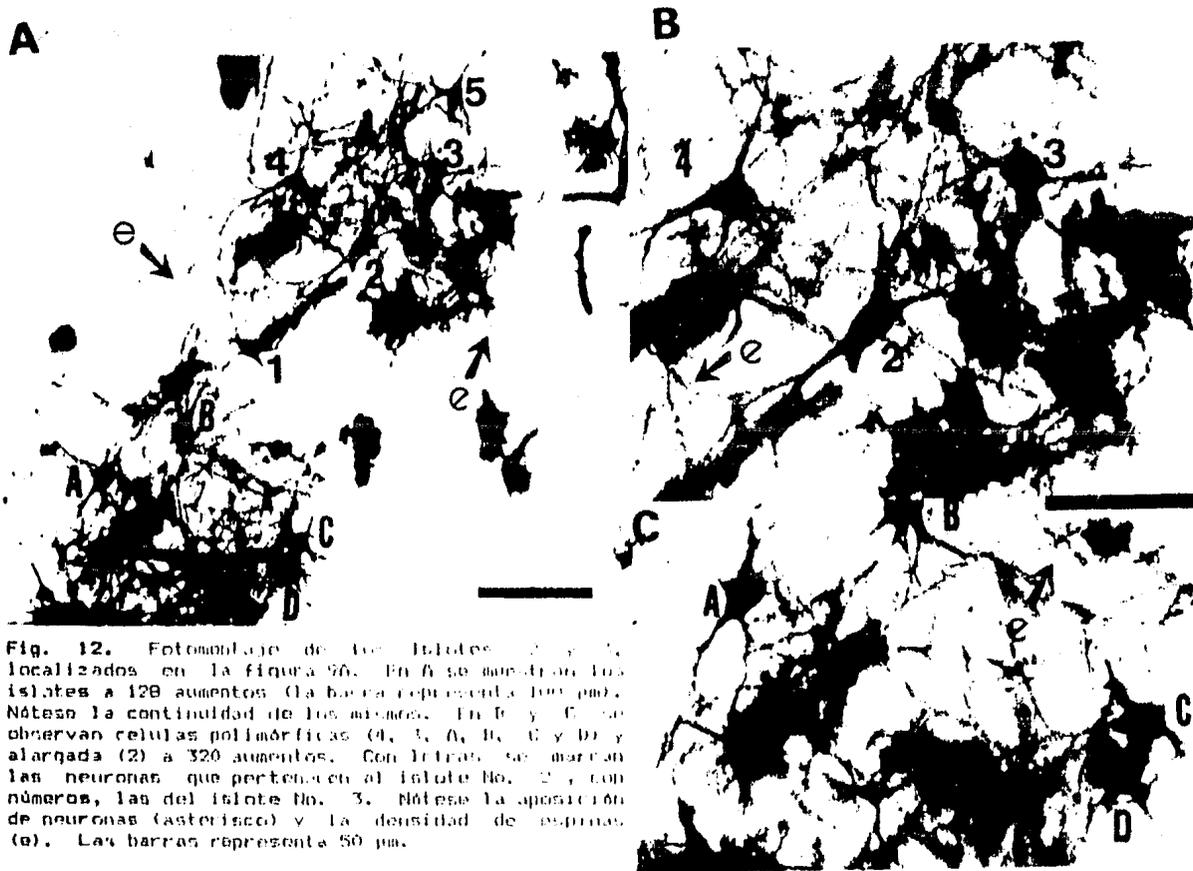


Fig. 12. Fotomontaje de los islotes 2 y 3, localizados en la figura 90. En A se muestran los islotes a 128 aumentos (la barra representa 100 μ m). Nótese la continuidad de los islotes. En B y C se observan células polimórficas (1, 2, 3, 4, 5, A, B, C y D) y alargada (2) a 320 aumentos. Con letras se marcan las neuronas que pertenecen al islote No. 2, con números, las del islote No. 3. Nótese la aposición de neuronas (asterisco) y la densidad de espinas (e). Las barras representa 50 μ m.

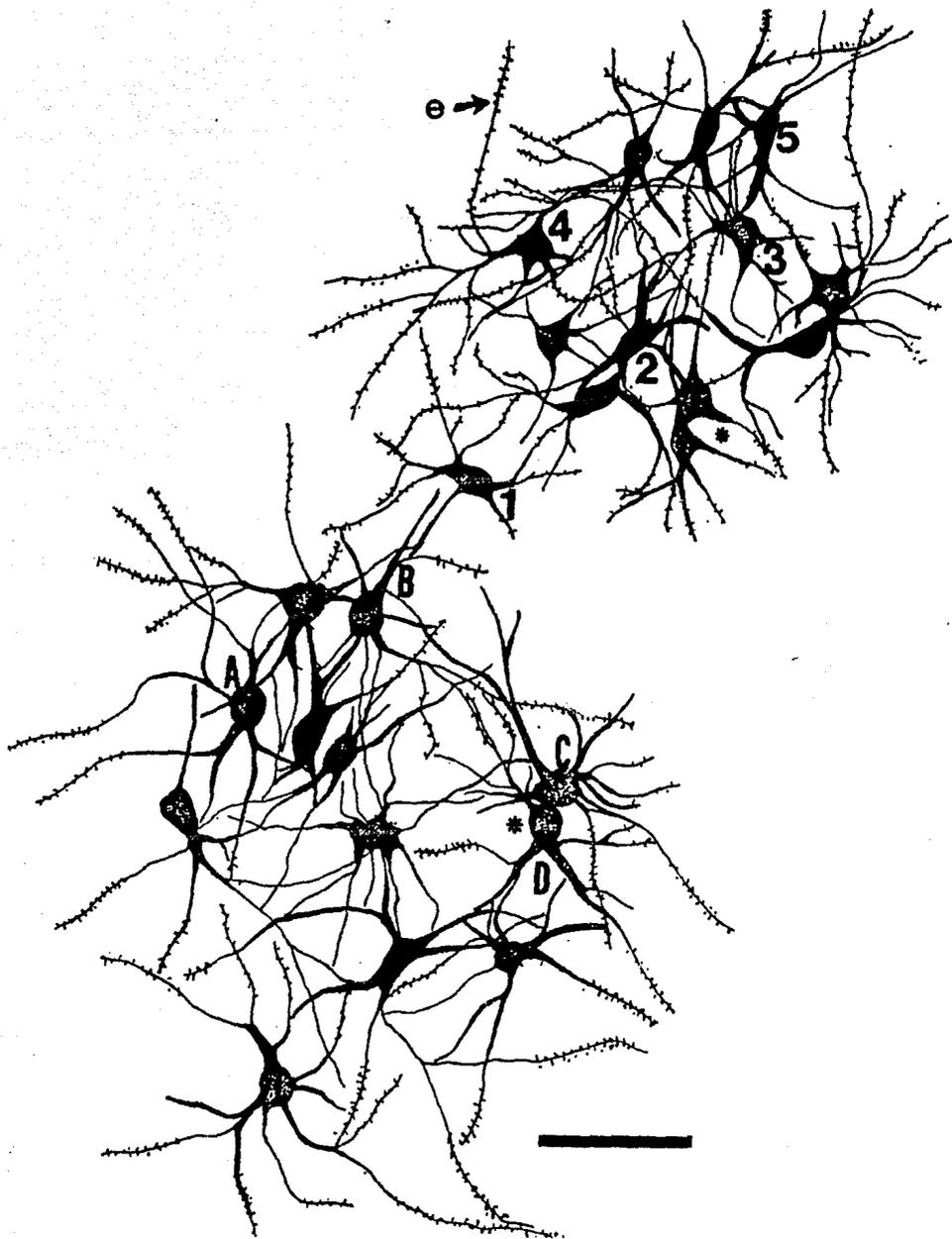


Fig. 13. Dibujo elaborado con la cámara lúcida a 400 aumentos, de los islotes 2 y 3 observados en la figura 11, con letras están marcadas las neuronas del islote 2 y con números las del islote 3. Se observan los diferentes tipos neuronales, células pequeñas polimórficas (punteadas) y células alargadas de mayor tamaño (oscuras). Nótese la apposición de neuronas (asterisco), los axones (a) y la densidad de espinas (e). La barra representa 50 μ m.



Fig. 14. Fotomontaje correspondiente al islote No. 4 marcado en la figura 9A. En A se muestra el islote a 128 aumentos, en donde se puede observar la íntima relación con los vasos sanguíneos (V). La barra representa 100 μ m. En B y C se observan células polimórficas (P) y alargada (A) a 128 aumentos. Los números marcan la correspondencia con la fotografía en A (la barra representa 50 μ m). En D, la célula alargada de la fotografía anterior, a 800 aumentos. Nótese la densidad de espinas dendríticas (e). Las barras representan 25 μ m.

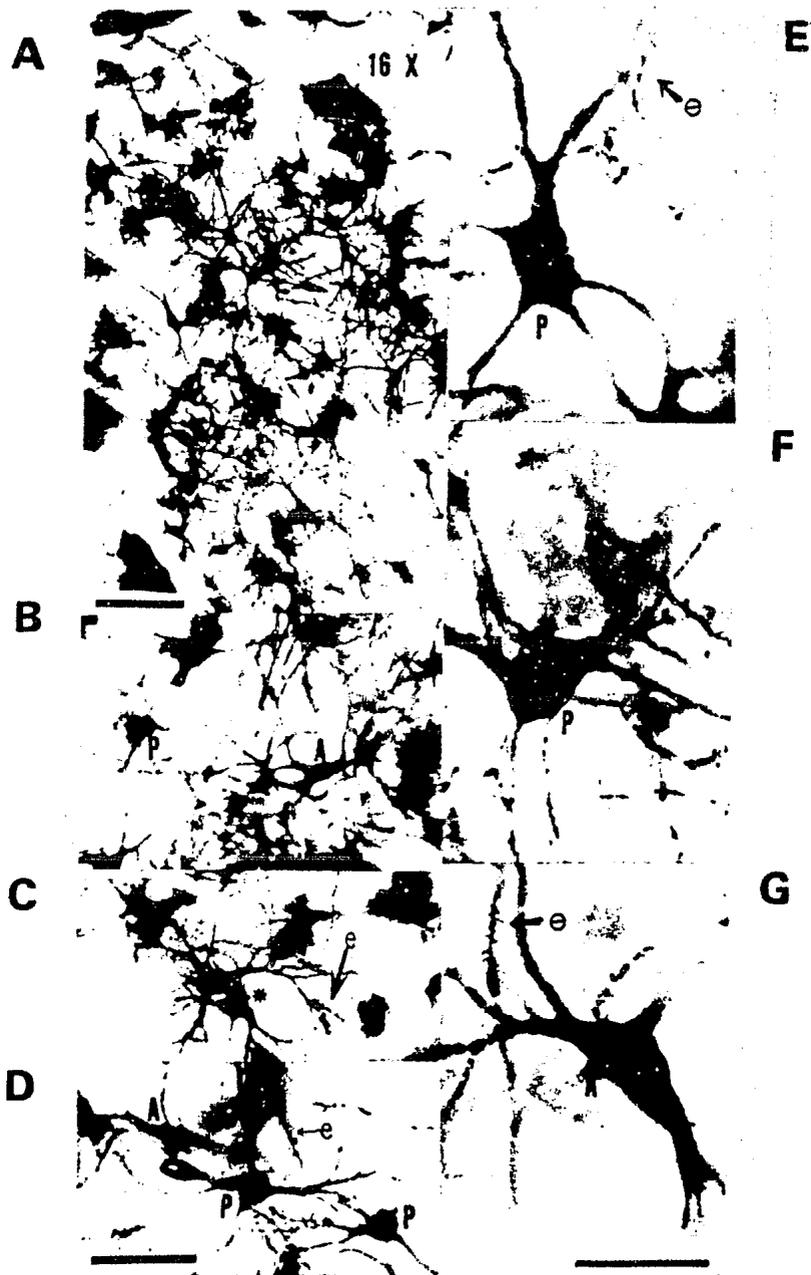


Fig. 15. Fotomontaje del islote No.5 marcado en el esquema 9A. En A se muestra el islote a 128 aumentos (la barra representa 100 μ m). En B, C y D se observan células polimórficas pequeñas (P) y células alargadas (A) a 320 aumentos (la barra representa 50 μ m). En E, F y G se presentan células a 800 aumentos. Nótese las espinas dendríticas (e) y la aposición de neuronas en C (asterisco). Las barras representan 25 μ m.

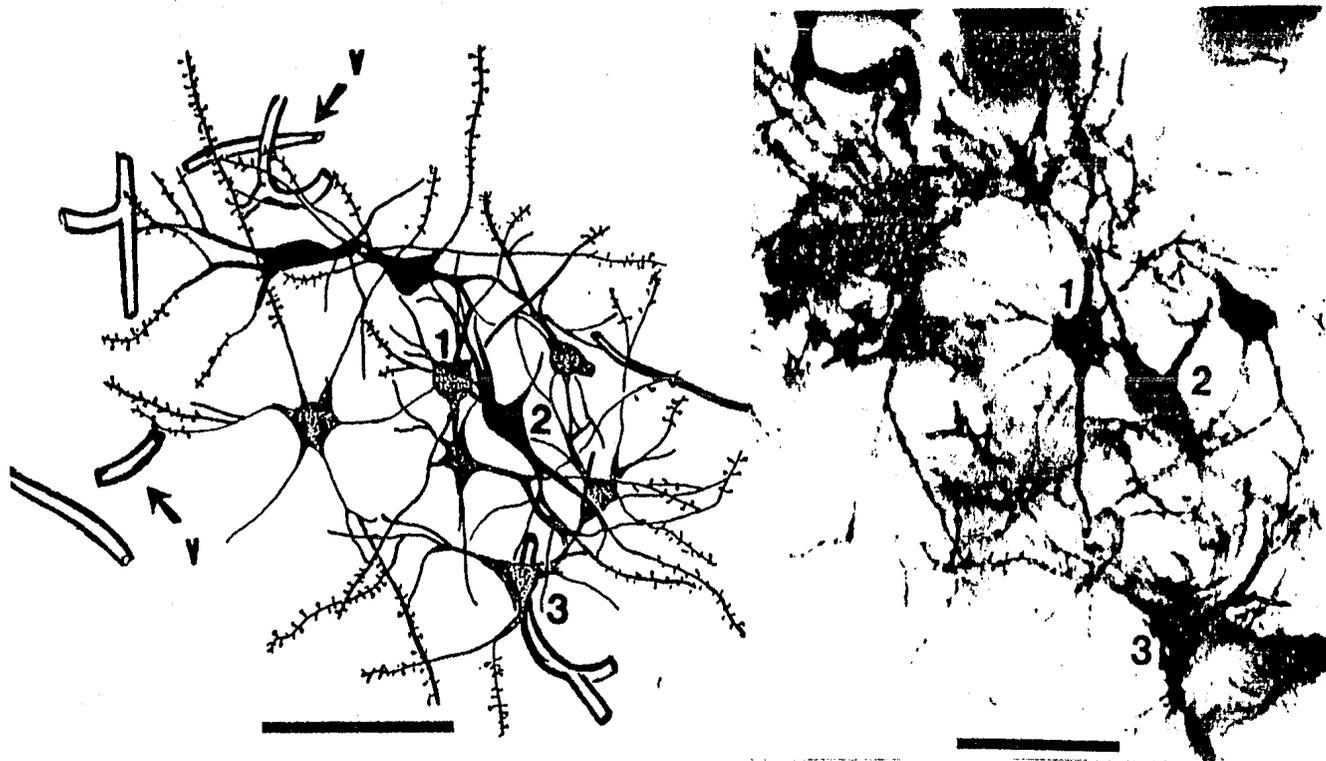


Fig. 16. Islote No. 6, localizado en la figura 9A. A la derecha se indica un dibujo realizado con la cámara lúcida a 400 aumentos, y a la izquierda, una fotomicrografía de las células polimórficas (1 y 3) y alargada (2), vasos sanguíneos (v) y las barras representan 50 μ m.

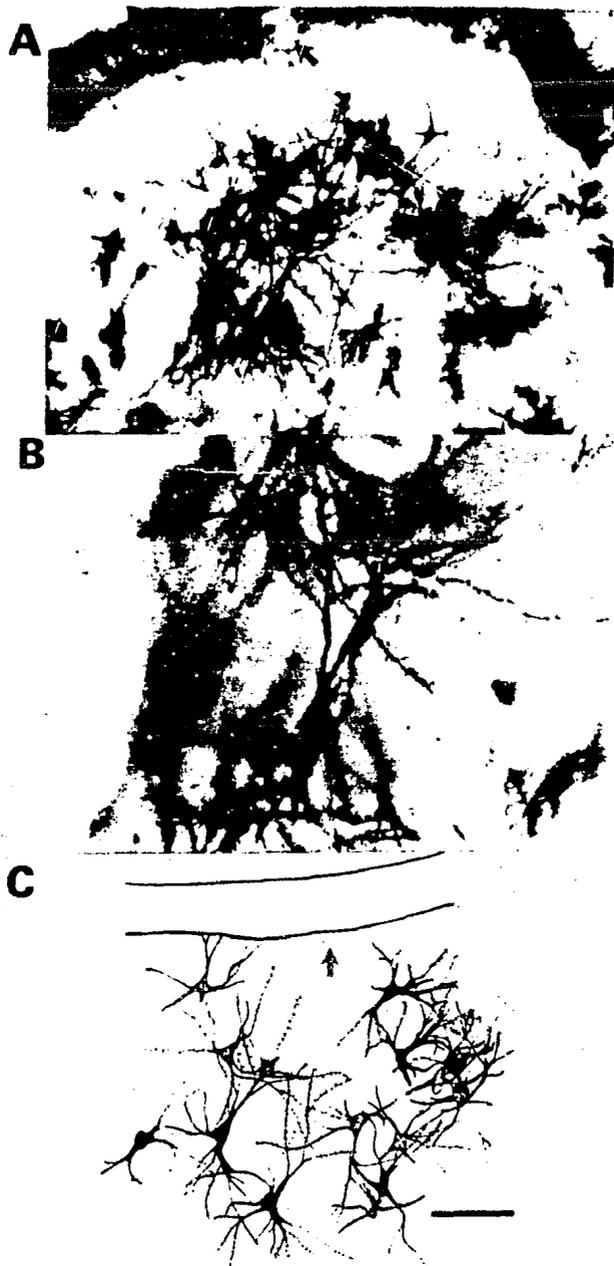


Fig. 17. Islote de Calleja No. 7 marcado en el esquema 9A, adyacente al núcleo acumbens. *A y B fotomicrografías a 128 y 320 aumentos respectivamente. C dibujo con la cámara lúcida a 400 aumentos del mismo la flecha indica la cercanía con los vasos

RESULTADOS

Los Islotes de Calleja en el cerebro de delfin fueron identificados en el tubérculo olfatorio, tal como se muestra en la figura 10A. Se localizaron adyacentes a la banda diagonal y al núcleo acumbens, en una zona de células piramidales dispuestas irregularmente de donde son conspicuos debido a que se tiñen fuertemente.

Los islotes se encontraron dispuestos en agrupaciones con plexos nerviosos muy densos y en zonas muy vascularizadas, tal como se puede observar en las figuras 11, 12A, 14A y 15A. La forma varió de redondo, oval o triangular, presentando continuidad entre uno y otro en algunas ocasiones (Fig. 12A y 13).

Las observaciones citomorfométricas realizadas en 7 islotes se muestran en el CUADRO I. Se midió el tamaño en cada islote, encontrándose un área promedio entre 213 μm (\pm 88.8) y 360 μm (\pm 142.7) en sus diámetros menor y mayor respectivamente. Se identificaron dos tipos celulares presentes en los islotes: células polimórfas o estrelladas cuyo soma en promedio midió 15 μm (\pm 1.13) en su eje menor y 21 μm (\pm 1.76) en el eje mayor y las células alargadas de 14 μm (\pm 1.12) y 35 μm (\pm 2.44) en sus ejes menor y mayor respectivamente. Se observa en el cuadro que las células más abundantes en los islotes fueron las del tipo polimórfico en

CUADRO I

MEDICIONES DEL AREA DE LOS ISLOTES DE CALLEJA Y LOS EJES MAYOR Y MENOR DE LOS DOS TIPOS CELULARES.

AREA DEL ISLOTE

TIPOS CELULARES

DIAMETROS		ESTRELLADAS			ALARGADAS		
MAYOR (μm)	MENOR (μm)	NUMERO DE CELULAS	EJES (μm)		NUMERO DE CELULAS	EJES (μm)	
			MAYOR	MENOR		MAYOR	MENOR
397.3	183.3	16	24.57	14.87	3	33.62	15.52
252.2	126.1	7	20.85	14.06	4	33.95	13.09
659.6	407.0	20	19.88	14.09	10	34.59	12.28
194.0	116.4	8	18.43	14.22	3	37.50	14.22
378.3	232.8	13	20.68	17.13	3	35.56	12.92
291.0	232.0	16	20.04	15.52	3	32.32	14.86
349.2	194.0	10	19.88	16.49	3	40.08	14.86
X 360.2	213.3		20.61	15.19		35.37	13.96
± 142.7	88.8		1.76	1.13		2.44	1.12

X: MEDIA

±: DESVIACION ESTANDAR

proporcion de 3:1.

En las figuras de la 10 a la 17 se observan las características estructurales de los dos tipos de células identificadas en los islotes, presentando en general un campo dendrítico muy abundante.

Las células polimórficas, presentan somas de redondos a triangulares y del cual parte un axón muy fino y de 4 a 5 dendritas delgadas con espinas dendríticas pequeñas. En ocasiones éstas células se encontraron opuestas unas con otras (Figs. 10, 11, 13 y 15).

Las células grandes alargadas se muestran en las figuras 11, 12b, y 14c; se encuentran en menor cantidad al centro del islote e intercaladas entre las células polimórficas de tamaño pequeño. El soma es fusiforme o triangular del cual parten de 2 a 3 dendritas gruesas que dan lugar a otras de menor diámetro (Figs. 12b, 14c y d, 15b y 16). Presentan espinas dendríticas grandes y el axon se observó partiendo del soma y en ocasiones partiendo de la dendrita de mayor tamaño.

Se analizó un islote cercano al núcleo acumbens, el cual difiere un poco de los demás, debido a que sus tipos celulares polimórficos son de forma más bien piramidal con dendritas de mayor diámetro, y las células alargadas en mayor cantidad, también con dendritas de mayor grosor (Fig.17).

DISCUSION

Nuestros resultados de la ubicación de los Islotes de Calleja en el delfin Stenella attenuata graffmani estan de acuerdo con la descripción previa, en ésta misma especie, por los doctores Nieto y Nieto (1986). Tambien concuerdan con la situación prevaleciente en Tursiops truncatus, en donde según Morgane y Jacobs (1972) los islotes se localizan en una matriz de células difusas, los cuales se tiñen intensamente y su número se incrementa através del area diagonal.

La gran vasculariación presente en estos núcleos y en las zonas adyacentes, así como los paquetes de fibras, sugiere una íntima relación con el sistema neuroendócrino, debido a que se han establecido relaciones de este tipo en tallo cerebral de primates (Felten y Crucher, 1979) y ratas (Diaz-Cintra *et al.* 1981).

Se analizaron 7 agrupaciones celulares en el tubérculo olfatorio, sin embargo no corresponde al número total en toda el área tubercular y que en el presente trabajo no fué posible obtener debido a las limitaciones de la técnica, por lo que la cuantificación total de los Islotes de Calleja deberá ser objeto de futuras investigaciones.

El estudio morfométrico realizado en cada uno de los 7 islotes reveló que los tipos celulares fueron distintos evidentemente de los tipos neuronales adyacentes a los mismos. Cabe mencionar que en el área tubercular no encontramos una disposición clara de tres capas corticales como se reporta en animales osmáticos (Hosoya, 1893), sin embargo, se observó una continuidad celular desde el límite membranal de la pía, hasta una zona de células polimórficas pequeñas, la que se continua con una zona de células piramidales en disposición irregular y de donde sobresalen los islotes fuertemente teñidos.

Con los resultados obtenidos en el presente estudio es posible realizar una comparación con los tipos celulares presentes en animales osmáticos. Las primeras descripciones de los Islotes de Calleja, fueron realizadas en conejo y raton (Calleja, 1893), identificando dos tipos celulares: células pequeñas estrelladas o piramidales, y células grandes fusiformes, triangulares y piramidales. En estudios más recientes de Fallon *et al.* (1978); (1983) y de Ribak y Fallon (1983), en la rata reportan tres tipos celulares: células granulares cuyos somas miden de 7 a 9 μm ; células de talla media de 10 a 20 μm y células alargadas de 20 a 35 μm de diámetro, siendo las células granulares, las más abundantes.

En Islotes de Calleja de *Stenella attenuata graffmani* pudimos distinguir dos tipos celulares, células polimórficas con somas de forma redonda u oval del cual parten de 4 a 5

dendritas con abundantes espinas y cuyos somas midieron en promedio de 15 a 20 μm de diámetro mayor y menor respectivamente. Se les podría relacionar con los estudios de Fallon (1983) en la rata quien reportó dentro de los tres tipos celulares, uno cuyo tamaño mide de 10 a 20 μm pero que se les relaciona exclusivamente con el Islote de Calleja medial, el cual se localiza entre el núcleo acumbens y el septum y que además presentan similitudes estructurales con las neuronas espinosas de talla media del estriado de los mamíferos (Pasik et al. 1979; Keemp, 1968; Kemp y Powell, 1971; y Hedreen 1981).

Una característica observada en células polimórficas de los islotes del delfín, es la presencia de células cuyos somas se encuentran opuestos unos con otros. Este tipo de uniones están presentes en las células granulares reportadas por Fallon et al. (1978) y Ribak y Fallon (1982). Además son similares a las uniones celulares intersomáticas del núcleo acumbens (Domisick, 1982) y del estriado ventral, tales uniones sugieren un acoplamiento eléctrico o bien una posible sincronía electrofisiológica de los paquetes celulares (Fallon 1983).

El segundo tipo celular encontrado en los islotes, corresponde a células alargadas con somas fusiformes o triangulares del cual parten de 2 a 3 dendritas gruesas con abundantes espinas y cuyos somas miden de 14 a 35 μm , tales

ESTA TESIS
SALIR DE LA
NO PUEDE
BIBLIOTECA

neuronas son similares al tipo celular principal del globus palidus (Fox, 1973; Falls y Park, 1981).

Finalmente, la presencia de los Islotes de Calleja en el Odontoceto anósmico, Stenella attenuata graffmani, no parece involucrarse en la olfacción, debido a que los tipos neuronales presentes en estos islotes corresponden a núcleos funcionales neuroendocrinos y la presencia de neuropéptidos y neurotransmisores de la misma naturaleza de los núcleos hipotalámicos, sugiere una participación en las funciones de la reproducción (Fallon y Ribak, 1980). Según Nieto y Nieto (1986), los Islotes de Calleja en el delfín deberán ser incluidas en el circuito del sistema límbico (Fig. 6) debido por una parte a que los delfines, son animales con una especial percepción sensorial y en quienes, éste circuito tiene una función predominante. Por otra parte la presencia de los Islotes de Calleja como estructuras anatómicas especializadas permiten observar la organización anatómica del sistema límbico para los aspectos evolutivos de la conducta.

CONCLUSIONES

1. Stenella attenuata graffmani, presentó conglomerados celulares en el tubérculo olfatorio, identificados como Islotes de Calleja. El área promedio midió $213\mu\text{m}$ (± 88) de diámetro menor y $360\mu\text{m}$ (± 142.7) de diámetro mayor.
2. El estudio morfométrico reveló que en los Islotes de Calleja están presentes dos tipos celulares, uno constituido por neuronas polimórficas pequeñas, cuyo soma midió de $15\mu\text{m}$ (± 1.13) en su eje menor y $21\mu\text{m}$ (± 1.76) en su eje mayor y células alargadas de $14\mu\text{m}$ (± 1.12) y $35\mu\text{m}$ (± 2.44) respectivamente, siendo las más abundantes las del tipo polimórfico en proporción de 3 a 1 con respecto a las células alargadas, las que se encontraron en las porciones centrales de los Islotes e intercaladas con las polimórficas.
3. La citoarquitectura dendrítica de los tipos celulares se observó diferente, así las células polimórficas presentaron de 4 a 5 ramas originadas del soma las que se ramificaron varias veces, presentando numerosas espinas dendríticas; Las células alargadas tuvieron de 2 a 3 ramas de mayor diámetro en relación a las polimórficas, además de presentar abundantes espinas de mayor tamaño.

4. La población celular encontrada en los Islotes de Calleja típicamente corresponden a la de los núcleos funcionales neuroendocrinos por lo que este estudio fundamenta la propuesta de los Drs. Nieto y Nieto (1986) en el sentido de que los Islotes de Calleja no deberan ser considerados como estructuras olfatorias sino más bien involucradas en el circuito del sistema Límbico, dada la conducta emocional de estas especies.

REFERENCIAS

1. Barr, M. L. 1975. El sistema nervioso humano: Un punto de vista anatómico. 2a ed. México: Harla. pp. 220-245
2. Barr, M. L. y J. A. Kiernan. 1986. El sistema nervioso humano: Un punto de vista anatómico. 4a ed. México: Harla. pp. 277-292.
3. Becari, N. 1910. II Lobo paraolfatorio nei mammiferi. Arch. Ital. Anat. Embriol., 9: 172-220.
4. Bayer, S. J. 1985. Neurogenesis in the olfactory tubercle and Islands of Calleja in the rats. J. Devl. Neurosci., 3: 135-147.
5. Blackstad, T. W. 1967. Cortical gray matter. A correlation of light and electron microscopical data. En: H. Hyden (ed). The neuron. Amsterdam: Elsevier. pp. 49-118.
6. Brethnach, A. S. 1953. The olfactory tubercle, prepiriform cortex and precomisural region of the rhinencephalon in the porpoise (*Phocaena phocaena*). J. Anat., 87: 96-113.
7. Brethnach, A. S. 1955. The surface features of the brain of the Humpback whale (*Megaptera novaeangliae*). J. Anat., 89: 343-354.
8. Brodal, A. 1963. General Discussion on the terminology of the Rhinencephalon. En: Progres in Brain Research (eds.). The Rhinencephalon and related structures. Amstedram: Elsevier. pp. 237-244.
9. Calleja, C. 1893. La región olfatoria del cerebro. Madrid: Nicolas Moya. pp. 11-40
10. Creps, E. S. 1974. The time of neuron origin in preoptic and septal areas of the mouse: an autoradiographic study. J. Comp. Neurol. 154: 161-243.
11. Charuchinda, C., P. Supavilai., M. Karobath. y J. M. Palacios. 1987. Dopamine D2 receptors in the rat brain: Autoradiographic visualization using a high-affinity selective agonist ligand. J. Comp., 7: 1352-60.
12. Dawson, T. M., D. R. Gehlert., R. T. McCabe., A. Barnett. y J. K. Wamsley. 1986. D-1 dopamine receptors in the rat brain: a quantitative autoradiographic analysis. J. Neurosci., 6: 2352-65

13. Diaz-Cintra, S., L. Cintra., T. Kemper., O. Resnick y P. J. Morgane. 1981. Nucleus raphe dorsalis: A morphometric golgi study in rats of three age groups. *Brain Res.*, 207: 1-16.
14. Domesick, V. B. 1982. Cell clusters in the cytoarchitectonic organization of the nucleus accumbens in the rat. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 8: 173
15. Fallon, J. H., K. Riley., J. C. Sipe. y R. Y. Moore. 1978. The Islands of Calleja: Organization and conections. *J. Comp. Neurol.*, 181: 375-396.
16. Fallon, J. H. y C. E. Ribak. 1980. Multiple neurotransmitter studies in the Islands of Calleja complex of the basal forebrain. III. Conections, correlations and reservations. *Soc. Neurosci. Abst.*, 6: 114.
17. Fallon, J. H., S. E. Loughlin. y C. E. Ribak. 1983. The Islands of Calleja complex of rat basal forebrain III. Histochemical evidence for a striatopallidal system. *J. Comp. Neurol.*, 218: 91-120.
18. Falls, W. M. y M. R. Park. 1981. Combined intracellular recording and light and EM analysis of neurons of the rat globus pallidus. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 7: 191.
19. Felten, D. L. y K. A. Crutcher. Neuronal-vascular relationships in the rafe nuclei, locus coeruleus, and substantia nigra in primates, *Amer. J. Anat.*, 155: 467-482.
20. Fox, C. A. 1940. Certain basal telencephalic centers in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 72: 1-62.
21. Fox, C. A., A. N. Andrade., I. J. Qui. y J. A. Rafols. 1973. The primate globus pallidus: A Golgi and electron microscopic study. *J. Hirnforsch.*, 15:75-93.
22. Ganong, W. F. 1986. *Fisiología Medica*. 10a ed. México: Manual Moderno. pp. 147-221.
23. Ganser, S. 1882. Vergleichend anatomische studien uber das Gehirn des Maulwurfs. *Morph. Jb.*, 7: 591-725.

24. Haber, S. N., y W. J. Nauta. 1983. Ramifications of the globus of the globus pallidus in the rat as indicated by patterns of immunohistochemistry. *Neuroscience*, 9: 245-260.
25. Hedreen, J. C. 1981. Neurons of the nucleus accumbens and other striatal regions in rats. *En*: R. B. Cronister. y J. F. De France (eds). *The Neurobiology of the Nucleus Acumbens*. Brunswick, Maine: Haer Institute for Electrophysiological Research. pp. 82-96.
26. Heimer, L. y R. D. Wilson. 1975. The subcortical projections of allocortex: Similarities in the neural associations of the hippocampus, the piriform cortex and the neocortex. *En*: M. Santini (ed). *Golgi Centennial Symposium Proceedin*. New York: Raven Press pp. 177-193.
27. Heimer, L. 1978. The olfactory cortex and the ventral striatum. *En*: K. E. Livingstom y O. Horny Kiewicz (eds). *Limbic Mechanisms*. New York: Plenum Press. pp. 177-193.
28. Heimer, L., R. D. Switzer. y G. W. Van Hoesen. 1982. Ventral striatum and ventral pallidum. Components of the motor system. *Trends Neurosci.*, 5: 83-87.
29. Hess, W. R. 1951. The control of the autonomic nervous system by the hypothalamus. *Lancet.*, pp. 627-630.
30. Hosoya, Y. 1973. Electron microscopic observations of the granule cells (Calleja's Island) in the Olfactory Tubercle of rats, *Brain Res.*, 54: 330-334.
31. Humphrey, T. 1967. The developmen of the human tuberculum olfactorium during the first three months of embryonic life. *J.Hernforsch.*, 9: 437-469.
32. Issacs, S., Fallon, J. H. y Riback, C. E. 1980. Multiple neurotransmitter studies in the Islands of Calleja complex of the basal forbrain I. Light microscopy. *Soc. Neurosci. Abstr.* 6: 114.
33. Jacobs, M. N. Morgane, P. J. y McFarland, W. L. 1971. The anatomy of the brain of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). Rhinic lobe (Rhiencephalon). I The Paleocortex. *J. Comp. Neurol.* 141: 205-272.
34. Jacobs, M. S., Galaburda, A. N., McFarland, W. L. y Morgane, P.J. 1984. The insular formation of the dolphin brain: Quantitative Cytoarchitectonic studies

- of the insular component of the Limbic lobe. J. Comp. Neurol. 225: 396-432
35. Kemp, J. M. 1968. Observations on the caudate nucleus of the cat impregnated with the Golgi method. Brain Res. 11: 467-470.
 36. Kemp, J. M. y T. P. Powell. 1971. The structure of of the caudate nucleus of the cat: Light and electron microscopy. Philos. Trans. R. Soc. Lond. Biol., 262: 383-401.
 37. Meyer, G. y P. Wahle. 1986. The olfactory tubercle of the cat. Exp. Brain Res., 62: 517-527.
 38. Millhose, O. E. y C. Heimer. 1984. Configurations in the olfactory tubercle of the rat. J. Comp. Neurol., 228: 571-597
 39. Morgane, P. J. y M. S. Jacobs. 1972. Comparative anatomy of the cetacean nervous system. En: H. J. Harrison (ed.). Functional Anatomy of the Marine Mammals. London: Academic Press Inc. pp. 117-241.
 40. Newman, R. y S. Winans. 1980. An experimental study of the ventral striatum of the golden hamster. II. Neuronal connections of the olfactory tubercle. J. Comp. Neurol., 191: 193-212.
 41. Nieto, A., y D. Nieto. 1973. Algunos datos morfológicos del cerebro del delfín Stenella Graffmani de la costa mexicana del Pacifico. Bol. Estud. Méd. Biol., 28: 9-21.
 42. Nieto, A. y D. Nieto. 1978. El problema Cerebro-Mente y el misterio de los delfines. México: Diana. 171 pp.
 43. Nieto, A. y D. Nieto. 1986. The Islets of Calleja in the dolphin. En: G. Pilleri (ed). Investigations on Cetacea. Berne: Benteli. Vol. XVIII. pp. 213-218.
 44. Phelps, P. E. y J. E. Vaughn. 1986. Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase in rat ventral striatum: a light and electron microscopic study. J. Neurocytol., 15: 595-617.
 45. Pigache, R. M. 1970. The anatomy of paleocortex. A critical review. Ergebn Anat Entwickl Gesch., 43: 6.
 46. Pilleri, G. y A. Wandeler. 1970. Ontogeny and functional morphology of the eye of the fin whale, Ealaenoptera physalus. pp. 179-229+17 plates. En: G. Pilleri (ed). Investigations on Cetacea.

Berne: Benteli. Vol. II. 296 pp.

47. Ramon y Cajal, S. 1955. Studies on the cerebral cortex
London: Lloyd-Luke.
48. Riback, C. E. y J. H. Fallon. 1982. The Island of
Calleja complex of rat basal forbrain I. Light and
electron microscopic observation. J. Comp. Neurol.,
205: 207-218.
49. Riback, C. E. J. H. Fallon., L. Richman y S. Issacs.
1983. The Islands of Calleja complex of rat basal
forbrain II. Histochemical localization of
acetilcholinesterase. Brain Res. Bull., 10: 775.
50. Richman, L., C. E. Riback., C. R. Houser. y J. H.
Fallon. 1980. Multiple neurotransmitter studies in
the Islands of Calleja complex of the bassal forebrain
II. Microscopy electron. Soc. Neurosci. Abst., 6: 114.
51. Sarnat, H. B. y M. G. Netsky. 1976. Evolución del sistema
nervioso. Madrid: Blume. pp. 307-461.
52. Shepherd, G. M. 1973. Neurobiology. New York: Oxford
University Press. 591 pp.
53. Sinclair, J. G. 1966. The olfactory complex of the
dolphin embryos. Texas Rep. Biol. Med., 24: 426-431.
54. Snider, R. S. y Lee, J. C. 1961. A stereotaxic atlas
of the rhesus monkey brain (Macaca mulata)
University of Chicago Press. Chicago.
55. Switzer, R. C., J. Hill., y L. Heimer. 1982. The
globus pallidus and its rostroventral extension in to
the olfactory tubercle of the rat: A cyto- and
chemoarchitectural study. Neuroscience., 7:1891-1906.
56. Talbot, K., N. J. Woolf. y L. Butcher. 1985. Basic
organization and cholinergic features of the feline
Island of Calleja Complex (ICC). Soc. Neurosci.
Abstr., 11: 1223.
57. Turner, W. 1891. The convolutions of the brain: a study
in compartative anatomy. J. Anat. Physiol., 25:
105-153.
58. Wake, M.H. 1979. Hyman's comparative vertebrate anatomy.
3 th. Chicago: University of Chicago Press. pp.
615-768.