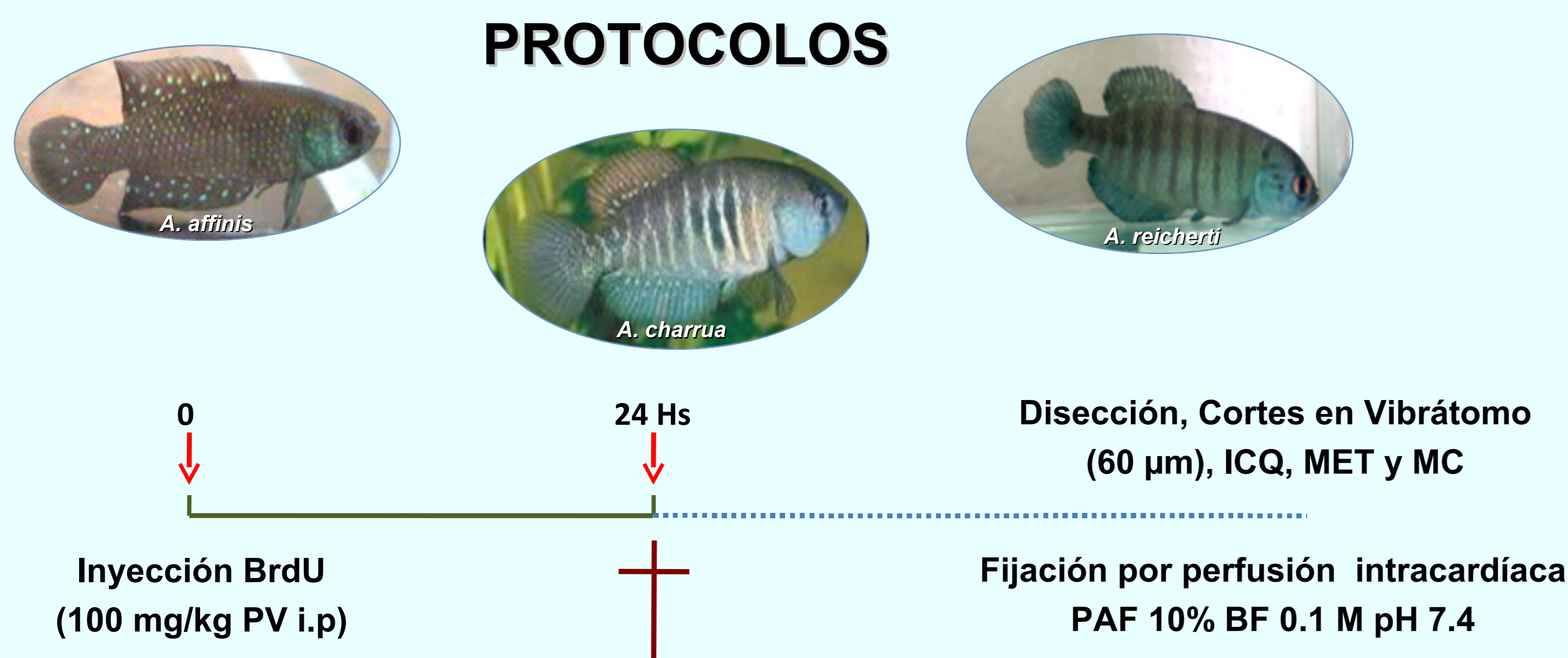


1 Neurofisiología Celular y Molecular (Neuroanatomía Comparada NAC) IIBCE; 2 Neurobiología Celular y Molecular, IIBCE; 3 Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias (FC); 4 Unidad de Microscopía Electrónica de Transmisión, (FC).
5 NAC, Unidad Asociada a la Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay

INTRODUCCION

Las *Austrolebias* pertenecen a un genero de peces anuales representado en nuestro país por varias especies. Por su grado de especiación constituyen un modelo valioso para estudios evolutivos. Nuestro grupo ha demostrado en el cerebro de estos peces, la existencia de zonas proliferativas con potencialidad neurogénica. El estudio se realizó en tres especies del género; *A. affinis*, *A. charrua* y *A. reicherti*, estas últimas más cercanas filogenéticamente.

El objetivo de este trabajo fue: Identificar, cuantificar y mapear las distintas poblaciones de células proliferantes en cinco regiones principales; Bulbo olfatorio (BO), Ventriculos del telencéfalo (VT), Torus longitudinalis (TL), Tectum óptico (TO) y Cerebelo (CB).



ANALISIS DE IMÁGENES Y ESTADÍSTICA

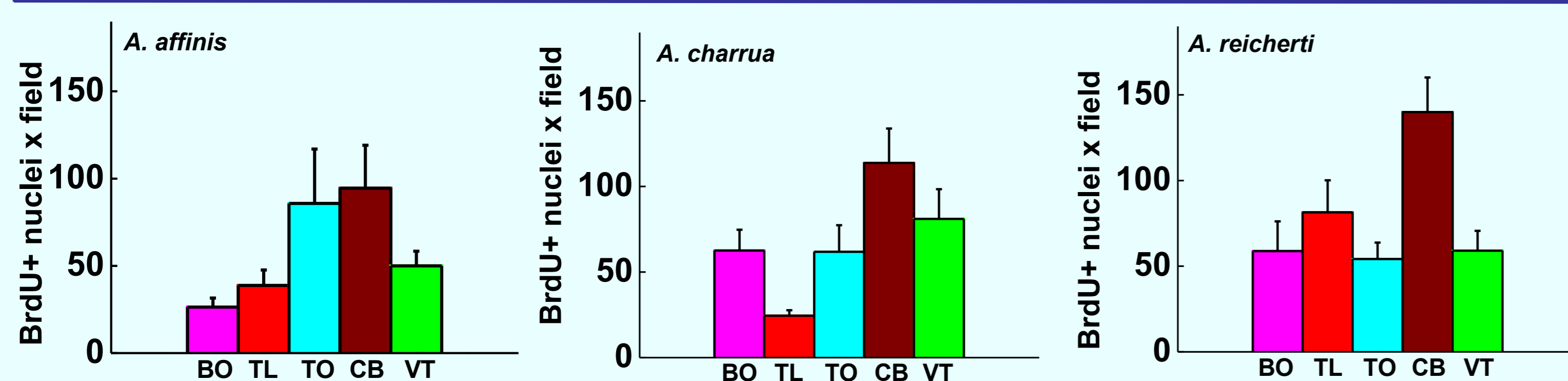
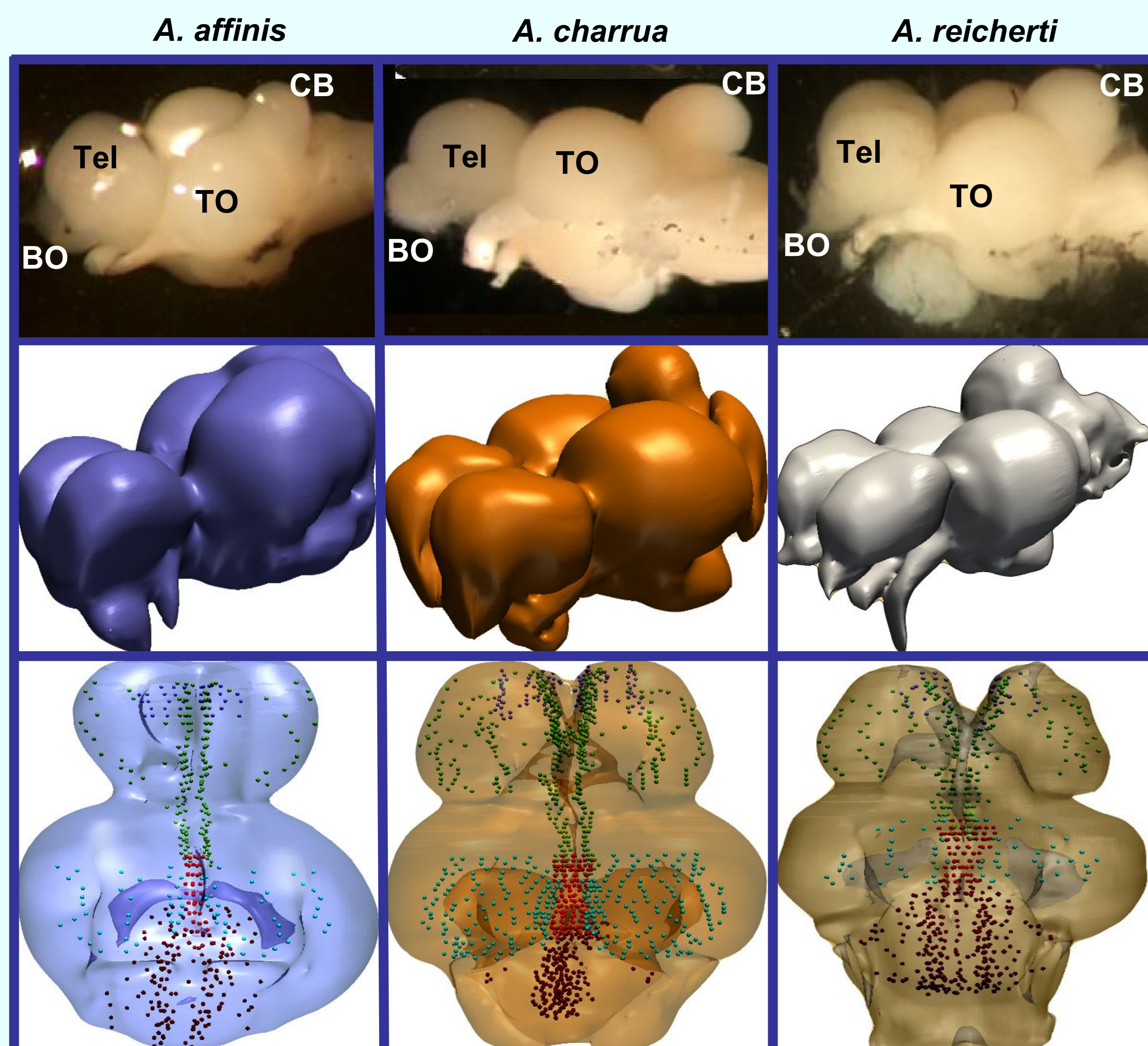
Las secciones histológicas fueron analizadas mediante Microscopía Confocal (OLYMPUS FV300) y Microscopía Electrónica de Transmisión (MET) (Jeol JEM 1010). El análisis estadístico de los datos obtenidos, de las tres especies utilizadas (n=6 para cada una), fueron comparados mediante el test *t* de student para datos no pareados.

RECONSTRUCCION 3D

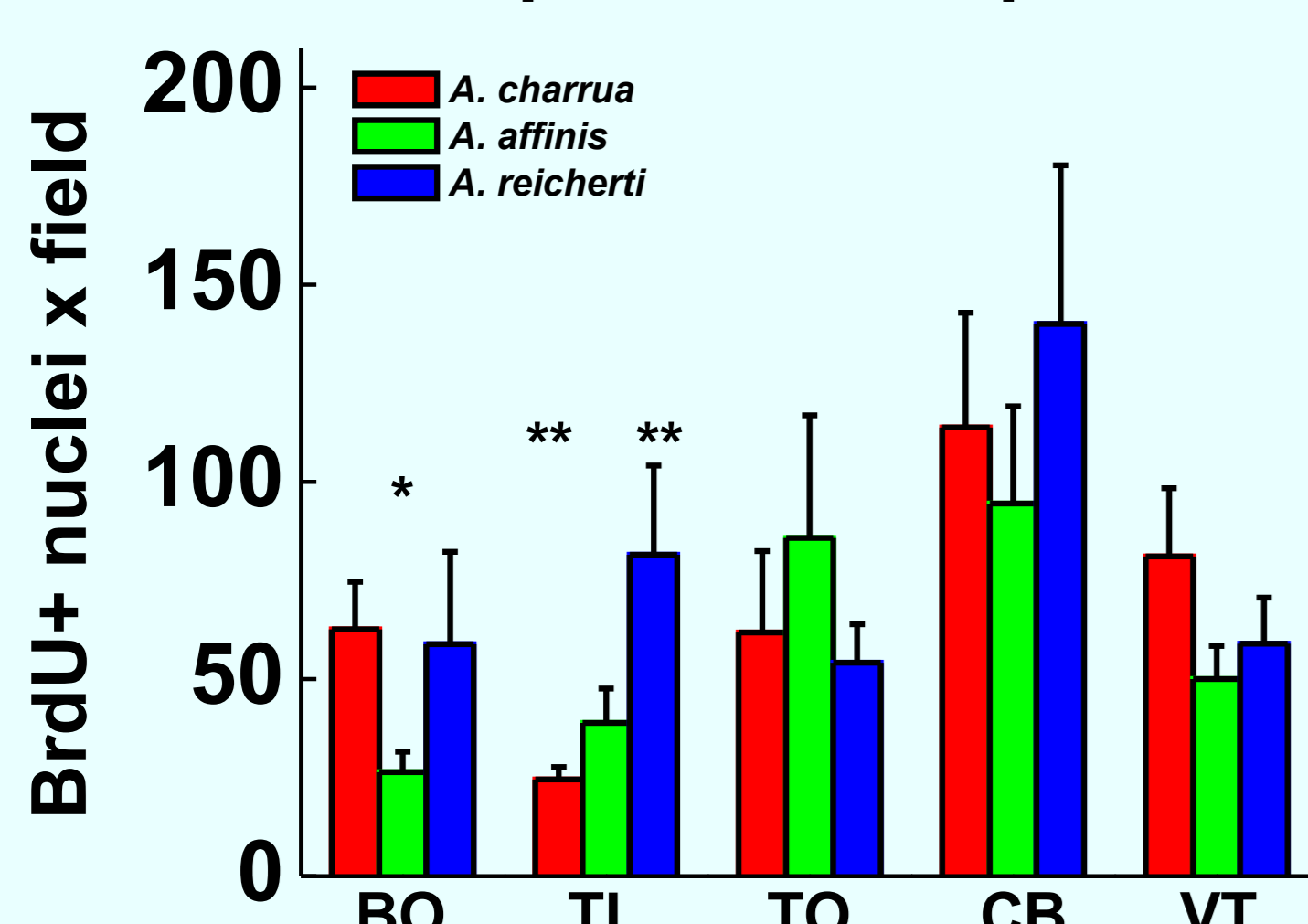
Las secciones transversales seriadas se fotografiaron con una cámara digital NIKON (COOLPIX 995), acoplada al Microscopio óptico. Las imágenes fueron transferidas al Programa Biovis3D (Sitio web: <http://www.biovis3d.com>) mediante el cual es posible la reconstrucción de órganos y estructuras en tres dimensiones espaciales.

RESULTADOS

1. Representación topográfica en 3D de las regiones proliferativas estudiadas y distribución de células BrdU+ en el cerebro de tres especies de *Austrolebias*. Telencéfalo (Tel)

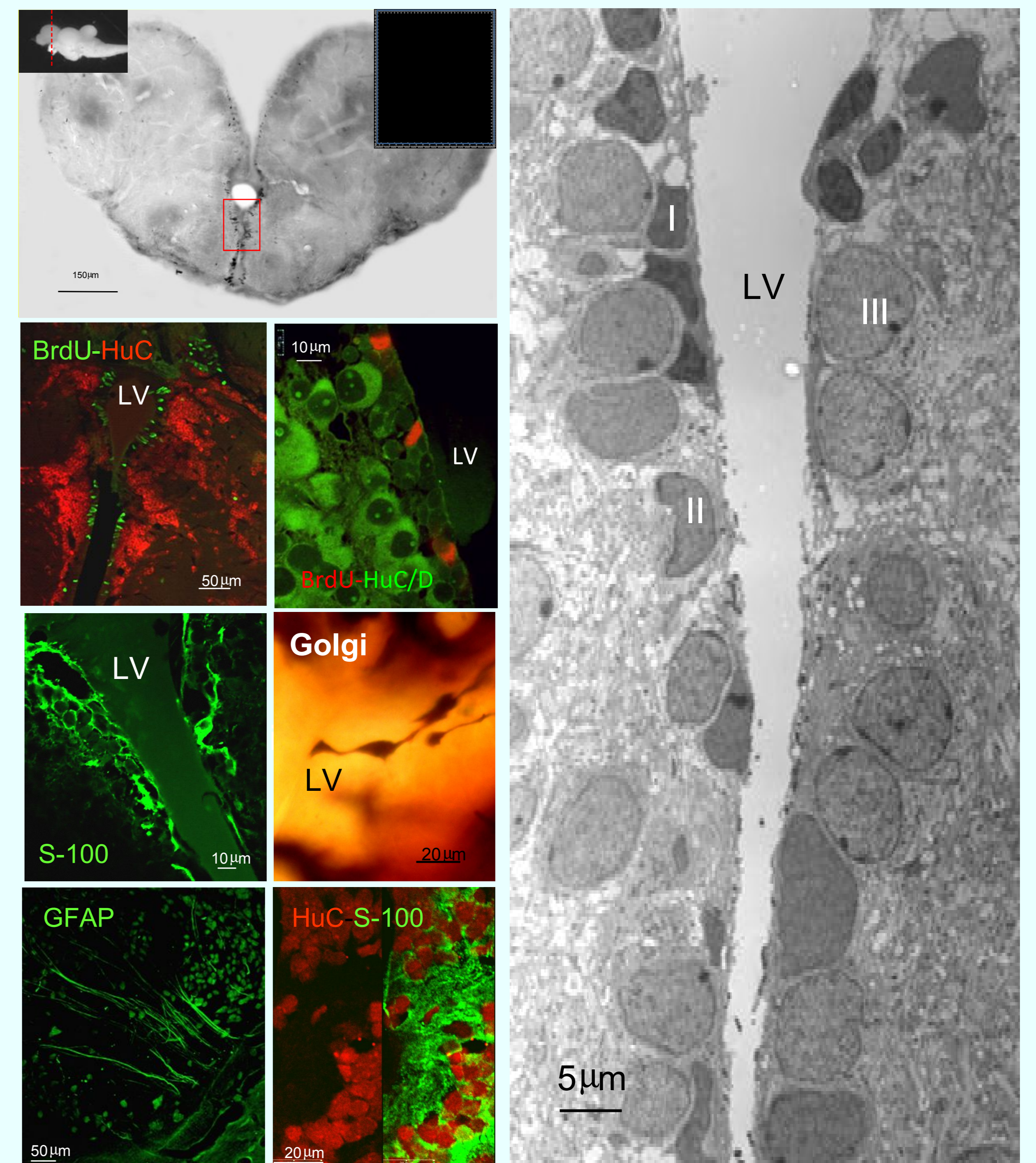


Comparación del promedio de células BrdU+ entre las especies.

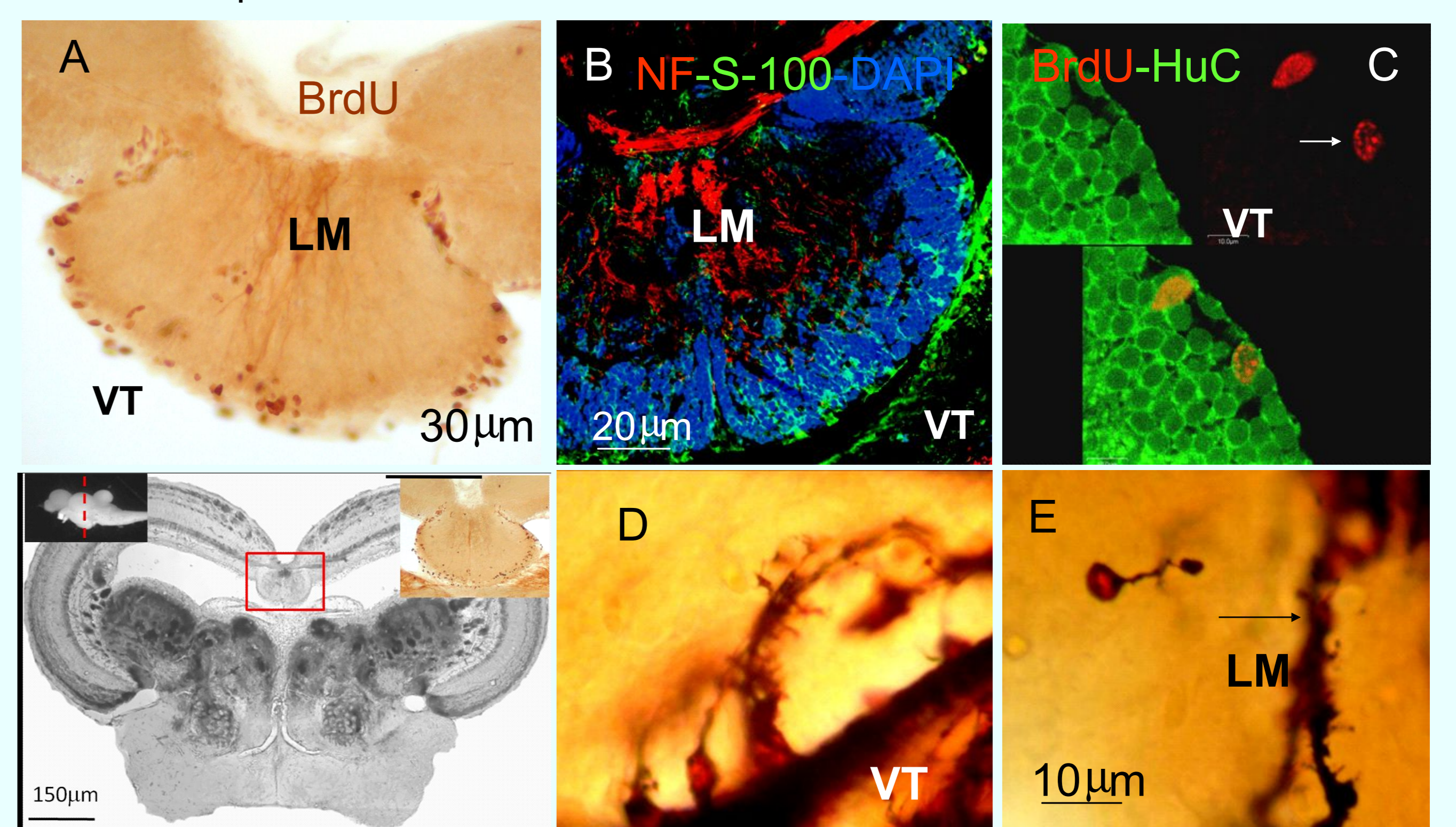


Los datos muestran el promedio de núcleos BrdU+ obtenidos en tres cortes sucesivos de cada región. Las especies filogenéticamente más cercanas presentan perfiles proliferativos similares, mientras que la especie más alejada (*A. affinis*), muestra datos significativamente diferentes a nivel del BO y TL. La comparación entre grupos se realizó mediante test de ANOVA de una cola ($p < 0.05$).

2. Heterogeneidad celular constatada en dos de las regiones proliferativas: paredes ventriculares del telencéfalo y torus longitudinalis.



La inmunocitoquímica mostró que las células gliales inmaduras (S-100, color verde) son abundantes en la luz ventricular (LV) y se disponen rodeando con una delgada lámina a las neuronas (HUC+, color rojo). Las glias radiales GFAP+ coexisten con las células S-100+. El método de Golgi revela la naturaleza radial de algunas de las células conectadas a la LV. La MET permitió identificar al menos tres tipos celulares: I) células con núcleo electroncensado de forma irregular, II) células con núcleo de perfil irregular pero con cromatina más laxa y III) células con núcleo electronlúcido provistos de uno o dos nucleolos presentes y con fenotipo claramente neuronal.



A. Corte transversal a nivel del Torus longitudinalis (TL). Se observa la distribución de los núcleos BrdU+ (marrón) en la región periférica. **B.** La presencia de células S-100+ (verde) ubicadas también en la periferia. **C.** Doble marcado de BrdU-HuC en la periferia del TL. Obsérvese que uno de los núcleos colocaliza con el marcador neuronal (flecha) mientras que el otro no. En **D** y **E** se observan dos tipos celulares con el método de Golgi. En **D** asociamos la morfología a la glía S-100+ mostrada en **B**, mientras que en **E** se impregnó una única célula de cuerpo redondo semejante a lo observado con el marcador neuronal HuC. En **E** también se observa un tabique glial (flecha) en la LM. VT ventrículo tectal; LM línea media; NF neurofilamentos; DAPI contratinción nuclear.

CONCLUSIONES

- La topografía de las regiones proliferativas es similar en las 3 especies.
- Las diferencias constatadas entre las tres especies en cada zona estudiada concuerda con las variaciones anatómicas, y la distribución de los núcleos en cada cerebro.
- El estudio cuantitativo muestra que el cerebelo presenta mayor número de células BrdU+ y la comparación entre especies confirma la proximidad filogenética entre *A. charrua* y *A. reicherti*.
- Las 5 zonas estudiadas mostraron potencial neurogénico y gliogénico siendo las células S-100+ las células con mas proliferación.