

CARACTERIZACIÓN DE LAS NEURONAS DE VON ECONOMO EN LA REGIÓN
POLAR DEL ÁREA 10 MEDIAL DE LA CORTEZA CEREBRAL HUMANA

CARLOS ARTURO GONZALEZ ACOSTA

CENTRO DE ESTUDIOS CEREBRALES
ESCUELA DE CIENCIAS BASICAS - FACULTAD DE SALUD
UNIVERSIDAD DEL VALLE
SANTIAGO DE CALI
2016

CARACTERIZACIÓN DE LAS NEURONAS DE VON ECONOMO EN LA REGIÓN
POLAR DEL ÁREA 10 MEDIAL DE LA CORTEZA CEREBRAL HUMANA

Tesis de grado para optar al título de:
MAGISTER EN CIENCIAS BASICAS MÉDICAS
CON ENFASIS EN NEUROCIENCIAS

Presentado por:
CARLOS ARTURO GONZALEZ ACOSTA

Director:
Dr. EFRAÍN BURITICÁ RAMIREZ.
Profesor Asistente

Asesora:
Dra. MARTHA I. ESCOBAR B.
Profesora Titular

CENTRO DE ESTUDIOS CEREBRALES
ESCUELA DE CIENCIAS BASICAS - FACULTAD DE SALUD
UNIVERSIDAD DEL VALLE
SANTIAGO DE CALI
2016

CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	10
2. MARCO DE REFERENCIA	12
2.1. ASPECTOS HISTÓRICOS.....	12
2.2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y CONECTIVIDAD	15
2.3. LOCALIZACION	20
2.5. DENSIDAD, DISTRIBUCIÓN Y ASIMETRÍAS HEMISFÉRICAS.....	28
2.6. DESARROLLO FILOGENÉTICO.....	34
2.7 NEURONAS DE VON ECONOMO EN EL SER HUMANO	39
2.8. DESARROLLO ONTOGENÉTICO	43
2.9 ASPECTOS FUNCIONALES Y PRESUNTO ROL EN ALGUNAS ENTIDADES NEUROPATOLÓGICAS	45
2.10 ANATOMÍA DEL ÁREA 10: LOCALIZACIÓN	49
2.11. CITOARQUITECTURA DEL ÁREA 10	51
2.12 CONECTIVIDAD DEL ÁREA 10	52
3. OBJETIVOS	54
3.1 OBJETIVO GENERAL:.....	54
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	54
4. METODOLOGIA.....	55
4.1 MUESTRA HISTOLOGICA.....	55
4.2 SELECCIÓN DEL TEJIDO Y PROCESAMIENTO.....	56
4.2.1 LOCALIZACIÓN MACROSCÓPICA Y TOMA DE MUESTRA DE LA REGIÓN POLAR DEL ÁREA 10 EN LA SUPERFICIE MEDIAL	56
4.4.2. PRESERVACIÓN DEL TEJIDO	57
4.2.3 CORTE DEL TEJIDO HISTOLÓGICO	58
4.2.4 PROCEDIMIENTO INMUNOHISTOQUIMICO.....	58
4.3 PROCEDIMIENTO DE REGISTRO.....	59
4.4 PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS.....	64
5. RESULTADOS.....	66

5.1 HALLAZGOS GENERALES	66
5.2 NÚMERO Y DENSIDAD GLOBAL: DATOS CUANTITATIVOS.....	69
5.3. COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD Y DENSIDAD ENTRE CRESTAS Y VALLES: DATOS CUANTITATIVOS	71
5.4. ASIMETRÍA INTERHEMISFÉRICA	72
5.5. DATOS GLOBALES SOBRE EL TAMAÑO NEURONAL	72
5.6. COMPARACIÓN DEL TAMAÑO DE LAS VENs ENTRE CRESTAS Y VALLES	73
5.7. COMPARACIÓN DEL TAMAÑO NEURONAL ENTRE HEMISFERIOS.....	74
6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	77
6.1. COMPARACIÓN CON LA UBICACIÓN CORTICAL PREVIAMENTE DOCUMENTADA.....	77
6.2 DIFERENCIAS EN DENSIDAD RESPECTO AL GIRO CÍNGULO, ÍNSULA Y ÁREA 9.....	78
6.3. DISTRIBUCION DIFERENCIAL DE LAS VENs ENTRE CRESTAS Y VALLES, ASÍ COMO ENTRE HEMISFERIOS.....	79
6.4. ANÁLISIS DEL TAMAÑO	80
6.5 DIFERENCIA DEL TAMAÑO ENTRE CRESTAS Y VALLES.....	81
6.6. IMPLICACIONES FUNCIONALES	81
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura1. VEN del BA9	13
Figura 2. Estimado estereológico de las VENs en el mono macaco	17
Figura 3. Soma y dendritas proximales de las VENs vs células piramidales	19
Figura 4. Porcentaje de neuronas inmunoreactivas a AFT3, IL4Ra y NMB	26
Figura 5. Localización de laminar de las VENs en BA9	43
Figura 6. Porcentaje de neuronas inmunoreactivas a AFT3, IL4Ra y NMB	44
Figura 7. Esquema de las VENs durante el desarrollo pre y postnatal	45
Figura 8. Localización del área 10 en la superficie medial	50
Figura 9. Sector de la CPFm seleccionada para la toma de muestras	57
Figura 10. Comparación del área de las VENs, Piramidales y Fusiformes	75

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Volumen de las VENs, Piramidales y fusiformes en simios	16
Tabla 2. Características de los sujetos para la muestra histológica	55
Tabla 3. Descriptiva para el número de VENs total	70
Tabla 4. Rango de las proporciones e inferencia para la variación	70
Tabla 5. Número, rango y proporcional de las VENs en crestas y valles	71
Tabla 6. Diferencias interhemisféricas de las VENs	72
Tabla 7. Área de las VENs, Piramidales y fusiformes	73
Tabla 8. Área de las VENs, Piramidales y fusiformes en crestas y valles	74
Tabla 9. Comparación interhemisféricas sobre el área neuronal	76

LISTA DE IMÁGENES

	Pág.
Imagen 1. Calibración de imagen en el programa SigmaScan Pro	61
Imagen 2. Rejilla de referencia para el conteo en el SigmaScan Pro	61
Imagen 3. Conteo de las células con el programa SigmaScan Pro	62
Imagen 4. Medición del área de una neurona Piramidal	63
Imagen 5. Medición del área de una VENs	63
Imagen 6. Medición del área de una neurona Fusiforme	64
Imagen 7. Caracterización citoarquitectónica del área 10p medial.	67
Imagen 8. Fotografía de una VENs sobre la cresta del Giro	68
Imagen 9. Fotografía de una VENs en el valle del Giro	68
Imagen 10 Caracterización de la marcación del anticuerpo Anti-NeuN.	69

RESUMEN

El presente trabajo es una descripción cualitativa y cuantitativa de las neuronas de Von Economo (VENs) en la sublámina Vb, de la región polar del área 10 medial en la corteza cerebral humana. En el hombre, las VENs han sido reportadas en el sector anterior del Giro Cíngulo (BA24), la porción rostral de la Ínsula y en el área 9 de Brodman. El objetivo de este estudio fue verificar la presencia de las VENs en la corteza frontopolar del humano y realizar una caracterización de la cantidad, densidad, tamaño y distribución de las mismas en las crestas y valles, tanto dentro del mismo hemisferio como en relación al contralateral. Para ello se observaron cortes de 50 μm de la corteza cerebral inmunomarcados con el anticuerpo contra NeuN, provenientes de 5 sujetos post-mortem sin historia de enfermedad neurológica ni psiquiátrica. En total se analizaron 60 muestras histológicas, representadas en 3 crestas y 3 valles por hemisferio para cada uno de los 5 sujetos. Se encontró que la densidad y tamaño de las VENs es menor a la descrita en BA24, BA9 y en la región rostral de la ínsula. El número y proporción celular fue mayor en las crestas que en los valles de los giros. Respecto a este dato, también se halló asimetría en favor del hemisferio derecho. En cuanto al área del soma, son 1.43 y 1.88 veces más grandes que el de las células Piramidales de la subcapa Vb y que al de las fusiformes pequeñas de la VI, respectivamente. Un resultado novedoso indica que el área de las VENs es mayor en los valles que en las crestas de los giros. Atendiendo a las conexiones del área 10 medial, los hallazgos sugieren que las VENs podrían vincularse funcionalmente con aspectos que van desde el desencadenamiento de las respuestas autonómicas hasta procesos asociativos de orden superior, tal como la teoría de la mente o la metacognición.

Palabras claves: Corteza Frontopolar, Corteza Cerebral de Humano, Neuronas de Von Economo, Área 10

SUMMARY

This work is a qualitative and quantitative description of the Von Economo neurons (VENs) in the layer Vb of the polar region of the area 10 medial in the human cerebral cortex. In humans, the VENs have been reported in the anterior area of the Cingulate Gyrus (BA24), the rostral part of the Insula and Brodmann's Area 9. The objective of this research was to verify the presence of VENs in human frontopolar cortex and to give a detailed characterization of the amount, density, size and distribution of the VENs in the crests and valleys both, inside the hemisphere and in relation to the contralateral one. For the study, immunostained samples of 50 μm from the cerebral cortex were observed with the antibody against NeuN, coming from 5 post-mortem individuals without neurological or psychiatric illness. In total, 60 histological samples were analyzed, represented in 3 crests and 3 valleys per hemisphere for each of the 5 individuals. It was found that the density and size of the VENs is smaller than the ones described in BA24, BA9 and the rostral region of the insula. The number and cellular proportion was greater in the crests than in the valleys of the gyri. Based on this fact, it was also found in favor of the right hemisphere. As for the soma size, it was 1.43 and 1.88 bigger than the Pyramidal cells of the Vb sublayer and the small fusiform cells of the VI, respectively. One of the latest results indicate that the VENs area is bigger in the valleys than in the crests of the gyri. Due to the 10 medial area connections, the findings suggest that the VENs could be involved, functionally, with aspects that include autonomic responses and associative processes of higher order such as the Theory of Mind or the metacognition.

Keywords: *Frontopolar cortex, human cerebral cortex, Von Economo Neurons, Area 10*

1. INTRODUCCIÓN

Después de casi un siglo de la primera descripción de las neuronas de Von Economo en el humano (Von Economo C, 1925), son muchos los interrogantes que se suman sobre su rol funcional. Según criterios morfológicos y de localización, las VENs se han vinculadas con la valoración intuitiva y la generación de respuestas rápidas dentro del contexto social (Allman et al., 2005). Estos postulados han sido apoyados por la evidencia reciente de su vulnerabilidad en patologías como el autismo, la psicosis y la demencia Frontotemporal, alteraciones donde el detrimento del componente social es un rasgo predominante (Allman, Watson, Tetreault, & Hakeem, 2005; Kim et al., 2012; Santillo, Nilsson, & Englund, 2013; Santos et al., 2011).

Por fuera del rango de los primates, las VENs han sido reportadas de forma ubicua en la corteza cerebral (Butti et al., 2014; Hof & Van Der Gucht, 2007; Raghanti et al., 2014). En primates su localización parece darse de forma más delimitada (Allman et al., 2011). En el hombre se han encontrado en la sublamina Vb de región frontal de la ínsula, el área 24 y 9 de Brodman. Otros sectores como la corteza Frontal dorsolateral y el polo Occipital han sido explorados, no obstante su presencia no fue confirmada (Fajardo et al., 2008; Raghanti et al., 2014).

El presente trabajo constituye el primer intento por caracterizar cuantitativa y cualitativamente las VENs en la superficie medial del polo frontal, específicamente en la subcapa Vb de la porción polar del área 10. Esta investigación permitirá analizar su morfología, densidad, tamaño y distribución.

En base a los hallazgos, este estudio posibilitará sugerir aspectos que connoten sobre las funciones previamente establecidas, y dará paso para instaurar nuevas hipótesis en relación al papel específico de las VENs en el área 10 medial, los cuales

abarcarían desde el desencadenamiento de respuestas autonómicas frente a estímulos sociales, hasta procesos superiores, tal como la metacognición o la asignación de estados mentales.

2. MARCO DE REFERENCIA

2.1. ASPECTOS HISTÓRICOS.

La primera descripción de un tipo de célula con morfología fusiforme en la corteza cerebral data de finales del siglo XIX por Betz (Betz W., 1881). Sin embargo, una caracterización más detallada de las células “fusiformes” habría de esperarse hasta la mitad de la tercera década del siglo XX (Von Economo C, 1925). En 1925 Constantin Von Economo, tras la publicación conjunta con Freiherr y Georg Koskinas de su obra “*Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde des erwachsenen Menschen*”, identificó una neurona particular con soma elongado y en forma de huso que parecían localizarse selectivamente sobre la región anterior del Giro Cíngulo. Su cuerpo cilíndrico, en ocasiones trazaba sobre la parte basal de su eje una trayectoria helicoidal, lo que instó a Von Economo a denominarlas como “corkscrew cells” o “sacacorchos” (Von Economo C, 1925). La localización laminar de esta neurona fue propuesta por diferentes autores, existiendo convergencia en su localización en la lámina Vb (Betz W., 1881; Hammarberg C., 1895; Von Economo C., 1925;).

Las células en “sacacorcho” o en forma de huso (también llamadas “spindle cells”) fueron halladas también en la porción anterior del Giro Cíngulo en grandes simios y en la región anterior de la corteza Insular humana (Nimchinsky et al., 1999). Por su ubicación en sectores corticales importantes para procesos como la autoconciencia y la cognición social (Stimpson et al., 2011), se ha analizado su vulnerabilidad en diversas patologías, por ejemplo en autismo (Allman, Watson, Tetreault, & Hakeem, 2005; Santos et al., 2011), algunas enfermedades neurodegenerativas (Kim et al., 2012; Santillo, Nilsson, & Englund, 2013; Santillo & Englund, 2014), entre otras (Brüne et al., 2011; Kaufman et al., 2008).

Desde 1995 se ha examinado de forma consistente la presencia de estas neuronas en las áreas 4, 9, 10L, 24, 45 y 46 de Brodman en la corteza cerebral humana; y parcialmente los hallazgos fueron coincidentes con lo descrito anteriormente: Las células, ahora designadas como “Von Economo” (VENs) (Allman et al., 2005), estaban presentes en la capa Vb no sólo del área 24. Uno de estos estudios, realizado en muestras de la superficie medial del Giro Frontal Superior correspondiente al Área 9, lamina Vb, se encontraron neuronas de cuyo cuerpo bipolar alargado se extendía un proceso apical y basal único, cumpliendo con los criterios para las VENs (figura 1) (Fajardo et al., 2008).



Figura 1: VEN del BA: 9 (NeuN). Tomado y modificado de (Fajardo et al., 2008).

Nuevos descubrimientos ampliarían el rango de especies en el que las VENs serían reportadas (Butti, Sherwood, Hakeem, Allman, & Hof, 2009; Hakeem et al., 2009).

Los cerebros de seis especies de cetáceos (ballena dentada, ballena beluga, ballena barbada, ballena jorobada, delfín mular y delfín risso) fueron estudiados, tomando como referencia sectores homólogos en los que se habían descrito previamente en primates. Las VENs fueron observadas a lo largo de todas las especies y regiones sujetas a investigación, siendo similares en su morfología, disposición espacial y mayor tamaño con respecto a las neuronas Piramidales de la Lámina Vb (Butti et al., 2009). Adicionalmente, en la ballena Jorobada las VENs se evidenciaron también en la corteza Temporal Inferior (proximal a la corteza Entorrinal), el Occipital, la corteza Ecto y Suprasilviana y en la profundidad del lóbulo Paralímbico. Unas pocas células fueron observadas en la porción posterior del Giro Cíngulo, en relación a la corteza Retroespleniana y en el Subículo (Hof & Van Der Gucht, 2007).

Ese mismo año se publicaba un reporte sobre la presencia de las VENs en dos elefantes Africanos: fueron referidas a nivel Subgenuar, en la porción frontal de la corteza Insular, en la corteza Frontal Dorsolateral y Dorsomedial. En general, criterios anatómicos, de distribución y densidad resultaban congruentes con la caracterización realizada con antelación (Hakeem et al., 2009).

Hasta ese momento había un consenso generalizado en la idea de que las VENs eran un arquetipo de evolución reciente y paralelo para diferentes especies con desarrollo filogenético divergente, las cuales tenían en común encéfalos grandes y conductas sociales complejas. Frente a esto se planteó que las VENs podrían ser el resultado de mecanismos adaptativos, especializados en la recepción, procesamiento y transmisión de información rápida a sectores distales del encéfalo (Butti et al., 2009; Hakeem et al., 2009; Watson, Jones, & Allman, 2006).

En relación con los primates, la aceptación inicial de que las VENs estaban solo en humanos y grandes simios dio un viraje con el reporte de su presencia en la corteza

agranular de la porción anterior de la Ínsula del mono macaco, lo que insinuaría la necesidad de reevaluar los presupuestos del devenir filogenético establecido (Evrard, Forro, & Logothetis, 2012). Recientemente una extensa búsqueda en cetáceos, artiodáctilos y perisodáctilos, permitió la identificación de estas particulares neuronas en especies muy distantes en términos evolutivos, tales como la ballena de Groenlandia, cerdos, terneros, ovejas, ciervos, vacas, entre otros (Raghanti et al., 2014). Al igual que en estudios previos, las VENs eran evidenciadas mayormente sobre las crestas de los giros y en menor densidad en la profundidad de estos (Nimchinsky et al., 1995; Raghanti et al., 2014). Salvo contadas excepciones, siempre fueron encontradas en cuatro lugares de análisis: región anterior de la Ínsula anterior, corteza anterior del Giro Cíngulo, polo Frontal y polo Occipital. Conservando los rasgos morfológicos y segregación laminar (Fajardo et al., 2008; Hakeem et al., 2009; Ibegbu, Umana, Hamman & adamu, 2014; Nimchinsky et al., 1999; Raghanti et al., 2014; Watson et al., 2006), los datos actuales indican la presencia de VENs en una divergente gama de especies (Butti et al., 2014; Raghanti et al., 2014), así como un emplazamiento generalizado a nivel de la corteza cerebral, que apunta a que las VENs pudieron surgir de manera emergente como respuesta a demandas funcionales que pueden variar entre especies e incluso individuos.

2.2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y CONECTIVIDAD

Las neuronas de Von Economo (VENs), que por más de 100 años recibieron diferentes denominaciones y que comúnmente se designaron como células en huso por la apariencia de su soma (Betz, 1981 ;Hammarberg, 1895;Ramón y Cajal, 1901), fueron finalmente referidas con el nombre del autor que las describió en detalle por primera vez y así se conocen por convención hasta la fecha (Watson et al., 2006; Allman et al., 2011). Von Economo y Koskinas particularizan una célula cuyo soma de gran tamaño se elonga de forma cilíndrica, con dos polos simétricos y que en algunos casos presentan un espiral sobre su propio eje (Von Economo C, 1925).

Un análisis de la región anterior del Giro Cíngulo (BA 24), lámina V, fue llevado a cabo en 5 tipos de grandes simios y en el ser humano (Nimchinsky et al., 1999). Según estos datos las VENs en el gorila (*Gorilla gorilla*), el orangután (*Pongo pygmaeus*), el bonobo (*Pan paniscus*), el chimpancé común (*Pan troglodytes*), y el hombre (*Homo sapiens*) alcanzan un volumen de $5,684\mu\text{m}^3$ ($\pm 3,740$), $6,648\mu\text{m}^3$ ($\pm 2,667$), $7,743\mu\text{m}^3$ ($\pm 4,476$), $8,796\mu\text{m}^3$ ($\pm 5,069$) y $20,822\mu\text{m}^3$ ($\pm 8,731$) respectivamente. Estos datos indican que para el área en mención, las VENs pueden tener una dimensión mayor que el de las neuronas piramidales de la misma lámina, y que en el caso del ser humano alcanzan hasta 4.6 veces su tamaño. De igual modo se realizó una diferenciación volumétrica respecto a las neuronas fusiformes de la capa VI, conservándose la tendencia explicada (tabla1) (Nimchinsky et al., 1999).

Table 2. Volumes of layer V spindle and pyramidal cells and small-layer VI fusiform cells

Species	Pyramidal cells	Spindle cells	Fusiform cells
<i>P. pygmaeus</i>	$1,951 \pm 913$	$6,648 \pm 2,667^{*\dagger}$	$1,425 \pm 445$
<i>G. g. gorilla</i>	$3,298 \pm 1,295$	$5,684 \pm 3,740^{\dagger}$	$1,402 \pm 648$
<i>P. troglodytes</i>	$2,786 \pm 1,198$	$8,796 \pm 5,069^{*\dagger}$	$1,061 \pm 462$
<i>P. paniscus</i>	$3,891 \pm 1,859$	$7,743 \pm 4,476^{\dagger}$	$1,306 \pm 476$
<i>H. sapiens</i>	$4,553 \pm 2,295$	$20,822 \pm 8,731^{*\dagger}$	$1,677 \pm 777$

Tabla 1: Tomado de Nimchinsky et al., 1999.

Una medición de 50 VENs en dos regiones cerebrales, una de ellas el área 24 de Brodman, correspondiente a la porción anterior del Giro Cíngulo y la otra el área 9 de Brodman, en el Giro Frontal Superior a 5mm de la convexidad Dorsolateral (inexplorada hasta el 2008), mostró que las VENs son más pequeñas en el área 24 ($536\mu\text{m}^2 \pm 161.5$) que en el área 9 ($627.5\mu\text{m}^2 \pm 96.92$) (Fajardo et al., 2008).

En cetáceos las VENs se observaron en diferentes regiones, su morfología era típica y fácil de identificar y su presencia se daba en la parte profunda de las capas III y V. Estimaciones volumétricas establecieron que las VENs eran entre 8% y 43% más grandes que las células piramidales de la lámina V y entre 54% y 73% que las fusiformes de la lámina VI. Un cálculo de la relación entre el promedio de las VENs y las neuronas piramidales de la lámina V de cada especie (Índice VEN), determinó que la mayor diferencia fue encontrada en la ballena jorobada, seguido por el delfín mular, la ballena beluga y el delfín risso. Se resaltó que en el caso de la ballena jorobada el volumen de las VENs fue más grande en comparación con los odontocetos (los odontocetos, a diferencia de los misticetos, hacen referencia a un suborden de los cetáceos caracterizados por la presencia de dientes en lugar de barbas; en este caso la comparación atañe a los delfines estudiados) ($p < 0,001$) (Butti et al., 2009).

En el mono macaco el estimado estereológico (Ver figura 2), señaló que el volumen de las VENs fue en promedio un 50% más grande que las neuronas piramidales de la capa V y un 70% más grande que la células fusiformes de la Lamina VI (Evrard et al., 2012).

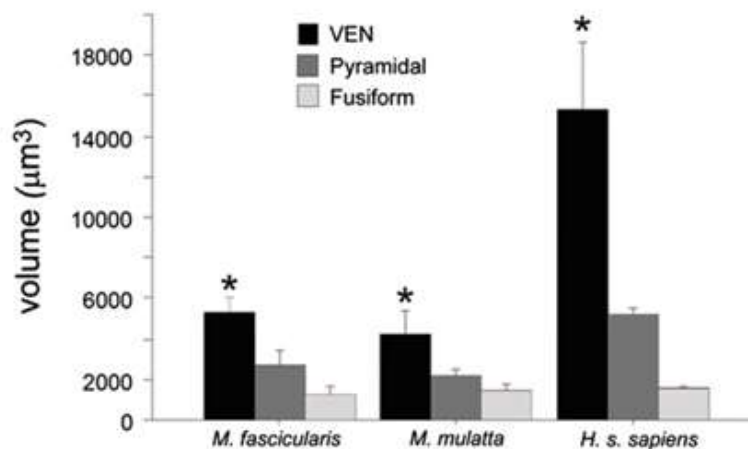


Figura 2: Tomado de Evrard et al., 2012

Otra discrepancia importante entre las VENs y las piramidales de la lámina Vb en la porción anterior del Giro del Cíngulo e Ínsula viene dado por la densidad de su árbol dendrítico (Watson et al., 2006). De los polos apical y basal de las VENs, los cuales emergen casi de forma simétrica al soma (Von Economo C, 1925), se despliegan ramas dendríticas estrechas y uniformes en comparación con las de las células piramidales de la misma lámina (figura 3). La cuantificación de los puntos de ramificación, tomados como referencia de la divergencia en relación a la distancia del soma, mostró que las células piramidales adquieren un número mucho más amplio de intersecciones de su árbol dendrítico basal entre 50 y 100 μm del soma, contrastando con la distribución uniforme de las VENs. Para las VENs no hubo diferencias significativas entre el número de intersecciones al comparar las extensiones apical y basal, lo cual contrastaba con lo establecido para las Piramidales, en cuyo caso se observó un número mucho mayor en su extremo basal. También se evidenció que la longitud dendrítica promedio de las Piramidales fue 2,5 veces mayor que las VENs ($2044.3 \text{ Vs} \pm 157.1 - 815,8 \pm 66.75$).

Por otro lado se notificó la presencia de espinas dendríticas en los dos tipos celulares, no obstante para el caso de las Piramidales la arborización basal ostentó un mayor número de estas. La mayor cantidad de espinas para las VENs se observó a una distancia promedio de entre 190 y 240 μm del soma, aunque en total con un número menor de estas (Watson et al., 2006). Dado que en términos funcionales la organización dendrítica es un indicador de la capacidad de procesar e integrar información y de la forma en que se propaga el potencial de acción (Bloodgood & Sabatini, 2007; Kingdom & Zellphysiologie, 2001), los datos sugieren que estas neuronas resultan más simples que las Piramidales en términos de procesamiento computacional (Watson et al., 2006).

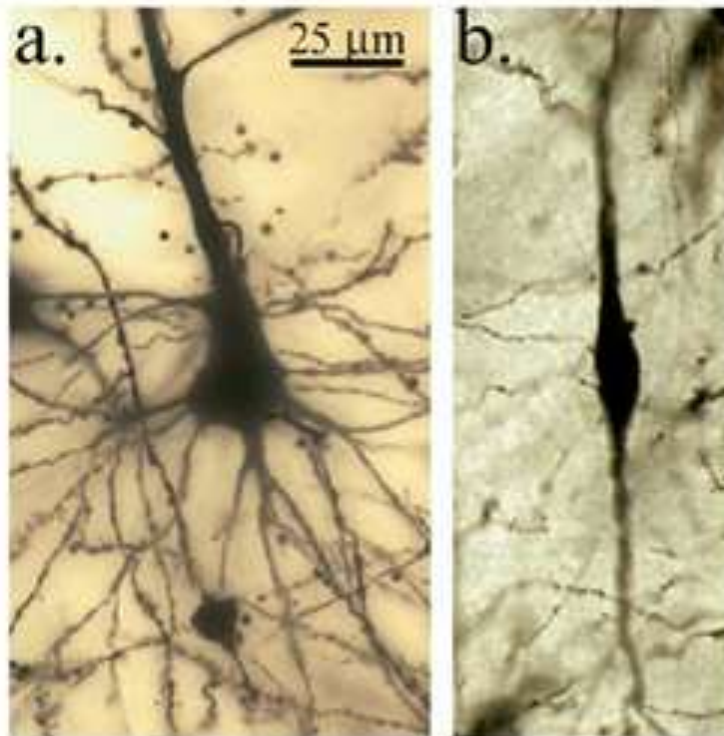


Fig. 1. Photomicrographs of soma and proximal dendrites of (a) a pyramidal and (b) the VENs stained with the Golgi method. Photomicrographs are montages taken of several planes and/or fields of view. Scale bar applies to both images.

Figura 3: Tomado de K. K. Watson et al., 2006

La morfología de las VENs ha sido tomada como punto de referencia para establecer posibles roles funcionales y hodológicos (Cauda, Geminiani, & Vercelli, 2014; Cobos & Seeley, 2013). Por principios morfológicos, el gran soma de las células de Von Economo insinúa ser el andamiaje estructural y metabólico para el sostenimiento de un axón que alcanzaría sectores bastante distales, aspecto que podría compartir con las neuronas Piramidales de la lámina Vb (Allman et al., 2005; Santillo et al., 2013; Sherwood et al., 2003). En el caso de la región anterior del Cíngulo, se han documentado proyecciones a estructuras del tallo cerebral como la Sustancia Gris Periacueductal (Nimchinsky et al., 1999).

La abundante presencia de neurofilamentos no fosforilados (propio de las células de grandes axones), así como la inyección de colorantes lipofílicos en el fascículo del Cíngulo ha posibilitado proponer que su axón se extiende fuera de la corteza (Nimchinsky et al, 1995). A partir de la técnica de hibridación in situ se ha sugerido que las VENs estarían expresando en alto grado factores de transcripción que caracterizan predominantemente a las neuronas de proyección cortico–subcortical de la lámina Vb. Una amplia inmunorreactividad de las VENs para factores de transcripción como FEZF2 y CTIP2, definitorios de las neuronas de proyección subcortical, en comparación con el bajo marcaje para otros como SATB2 y TBR1, representativas de neuronas cuyos axones cursan a través del cuerpo calloso (comisurales) y eferentes cortico-talámicas respectivamente, constituye un indicador más de su presunta predominancia como célula que proyecta a regiones distales a la corteza cerebral. Sin embargo, es importante considerar que la expresión, aunque menor, de factores de transcripción asociados a fibras comisurales y eferentes talámicas no descarta un posible rol de conectividad más divergente (Cobos & Seeley, 2013).

Basados en estudios por resonancia magnética funcional que han evidenciado que la región anterior de Giro del Cíngulo y la Ínsula se vinculan con aspectos determinantes para la cognición social (Berthoz, Armony, Blair, & Dolan, 2002; Imagery et al., 2000; Soc, 2004; Tania Singer, Ben Seymour, John O'Doherty, Holger Kaube, Raymond J. Dolan, n.d.; Karli K Watson, Matthews, & Allman, 2007), se ha postulado que las VENs, de acuerdo con su localización y morfología, podrían ser determinantes en la evaluación e integración de información proveniente de contextos sociales, así como de la generación de respuestas rápidas ante las demandas de dichos contextos.

2.3. LOCALIZACION

La individualización inicial realizada en humanos circunscribe de forma específica las VENs a la región anterior del Giro Cíngulo y la porción anterior de la Ínsula.

Según los hallazgos pioneros estas células eran exclusivas de la parte anterior del “lóbulo límbico” (Von Economo C, 1925). Previamente se habían realizado algunas investigaciones en las cuales se mencionaba un tipo de neuronas fusiforme, las cuales también se localizaban en el Giro del Cíngulo y, coincidente con lo propuesto por Von Economo en 1925, en la lámina V (Betz, 1981; Hammarberg, 1895; Ramón y Cajal, 1901). La presencia de las VENs fue confirmada posteriormente, sectorizándolas de acuerdo con la nomenclatura de Brodman en el área 24 (Nimchinsky et al, 1995) y en el sector homólogo para grandes simios (entre los que se cuenta el gorila, el orangután, el bonobo y el chimpancé común), así como en la corteza Frontoinsular de dichas especies (Allman et al., 2011). En humanos, la región anterior o frontal de la Ínsula donde se han identificado las VENs, concierne en un gran porcentaje al sector agranular delimitado en los mapas citoarquitectónicos (Nieuwenhuys, 2012), sin embargo en los simios la corteza Frontoinsular parece atañe a un segmento menor de la corteza agranular (Allman et al., 2011; Gallay et al., 2012). En todos los casos su ubicación se restringe a la lámina Vb (Nimchinsky et al., 1999).

En el mono macaco se halló las VENs en el Giro del Cíngulo y con mayor abundancia en el sector agranular anterior de la Ínsula, el cual se consideró homólogo por sus características citoarquitectónicas en humanos. Topográficamente está anterior al Limen y medial al Surco Limitante Superior. (Evrard et al., 2012; Gallay et al., 2012; Nieuwenhuys, 2012). La localización de las VENs se dio en la sublámina Vb. Con menor frecuencia se describieron en el área 10 y el área 14, que corresponden por referencia topográfica al Giro Recto (Evrard et al., 2012).

Resulta llamativo el reporte de un pequeño número de células fusiformes en la porción anterosuperior de la Ínsula del chimpancé, el gorila y el humano, las cuales se limitaban a la lámina VI. No obstante su ubicación no se daba radialmente sino que se organizaban de forma horizontal, paralelo a la sustancia blanca subcortical,

por lo que se determinó que eran una tipología funcionalmente diferente de las VENs (Allman et al., 2011).

A través del uso de los anticuerpos NeuN y MAP2 se identificó las VENs en humanos en el Giro Frontal Superior, a 5 milímetros de la convexidad Dorsolateral, correspondiente al área 9 de Brodman (Fajardo et al., 2008), siendo esta la ubicación más reciente y novedosa de estas células en nuestra especie. En este mismo estudio se descartó su presencia en otras áreas prefrontales como el área 46, 45 y la región lateral del polo frontal. El área 9 es un área citoarquitectónicamente granular (Rajkowska G, 1995).

Posteriormente en el elefante las VENs se describieron en el Giro del Cíngulo y la región frontal de la Ínsula, siendo esta última la estructura donde se halló la mayor proporción respecto a las células Piramidales de la misma capa. Vale la pena agregar que había “grupos” de células fusiformes localizadas en relación a la sustancia blanca subcortical de la Ínsula, por lo que los autores las consideraron como parte del Claustro. Adicionalmente, las VENs fueron observadas en un área Prefrontal Dorsolateral y en menor medida en el polo Frontal. Coherente con estudios previos, las VENs fueron más profusas en las crestas que en los valles de los giros (Hakeem et al., 2009). Adicionalmente se describió las neuronas de Von Economo a nivel Subgenual y en la región Dorsomedial del lóbulo frontal, aunque limitado al hemisferio derecho. En todos los casos fueron localizadas en la lámina V (Hakeem et al., 2009).

En seis clases de cetáceos (ballena dentada, ballena beluga, ballena barbada, ballena jorobada, delfín mular y delfín risso) se corroboró la existencia de las VENs en la Ínsula, el Giro del Cíngulo y la corteza Frontopolar. No obstante la caracterización dada no solo las ubicó en la lámina V, sino también en la profundidad de la capa III para todas las regiones (Butti et al., 2009). En el caso de

la ballena jorobada las VENs resultaron más divergentes. Se describieron, además de los sectores indicados en otros cetáceos, en la corteza Temporal Inferior (proximal a la corteza Entorrinal), en la región Occipital de la corteza Ecto y Suprasilviana y en la profundidad del lóbulo paralímbico. Unas pocas células fueron observadas en la porción posterior del Giro Cíngulo, en relación a la corteza Retroespleniana y en el Subículo (Hof & Van Der Gucht, 2007).

En el hipopótamo pigmeo, uno de los parientes vivos más cercanos a los cetáceos, se ha dado una descripción ubicua de las VENs en la corteza cerebral (Butti et al., 2014). Ello fue posteriormente demostrado en otros linajes pertenecientes al clado superordinal (el término clado hace referencia a las especies que divergen de un ancestro filogenético común) que vincula los cetartiodáctilos, perisodáctilos y afrotheria.(Raghanti et al., 2014). Un análisis estereológico en el polo Frontal, la corteza anterior del Cíngulo, la región anterior de la Ínsula y el polo Occipital de diferentes especies, entre las que cuenta la ballena de Groenlandia, ovejas, ciervos, caballos e hydrax de roca, coincidió con tal distribución “omnipresente” de las VENs. Se observaron con mayor frecuencia en la lámina III y V, aunque en algunos animales como las ovejas y las vacas también se encontraron en la capa II. En el hydrax de roca se localizan en la lámina III, pero ausentes en las capas II y V. En general, el patrón que designaba una mayor densidad en las crestas de los giros fue constante en dicho estudio.

Salvo ciertas excepciones y, conservando la distribución específica entre especies, las VENs estuvieron presentes en todas las áreas examinadas (Raghanti et al., 2014). Dentro de las excepciones más notable se refirió la ausencia de las VENs en el polo Frontal y Occipital en el humano.

2.4 PERFIL BIOQUÍMICO

El primer esbozo de las características bioquímicas de las VENs fue dilucidado a partir de la inmunotinción intensa contra la proteína de Neurofilamentos no-fosforilados, lo cual constituyó una evidencia indirecta sobre la presencia de un axón robusto que participaría en la conducción de información rápida (Ibegbu, Umana, Hamman & adamu, 2014; Cauda et al., 2014; Stimpson et al., 2011, Nimchinsky et al, 1995). Sin embargo, la necesidad de establecer un perfil detallado ha sido apremiante, y paulatinamente se suman estudios a este objetivo. En 2011 (Allman et al., 2011), se publicó un trabajo donde se muestra la expresión de Neuromedina B en la región frontal de la Ínsula. En dicho trabajo se observó una reacción intensa sobre la lámina V y, a pesar que de que la tinción no fue selectiva para un tipo celular, sí pareció acentuarse sobre las VENs. Adicionalmente, una respuesta similar se dio para otros marcadores como el Péptido Liberador de la Gastrina y la Bombesina (Allman et al., 2011). En este mismo estudio se halló una fuerte marcación, tanto en el soma como en los procesos dendríticos, de la proteína expresada por el gen DISC-1. En algunos sujetos, alrededor del 90% de las VENs fueron positivas para dicho marcador, en comparación con el 36% que se dio para otros tipos celulares distribuidos en láminas diferentes a la V. Neuromedina B y el Péptido Liberador de la Gastrina participan en la liberación de enzimas digestivas, la contracción muscular en el peristaltismo y la ordenación de los mecanismos inmunológicos como respuesta a la ingesta de sustancias potencialmente nocivas (Jensen, Battey, Spindel, & Benya, 2008). La intervención peptídica se da a nivel local, pero también vinculando estructuras cefálicas como el Hipotálamo y la Ínsula, esta última definitiva en la integración de la interocepcion visceral con procesos mentales superiores tales como la motivación y la toma de decisiones (Allman et al., 2011; Pauc & Young, 2009). DISC-1 es un gen que participa en la regulación de fenómenos como la proliferación, diferenciación y migración celular, así como en la definición de la arquitectura dendrítica. La organización dendrítica esta mediada por la supresión del crecimiento de ramas secundarias y terciarias y podría ser

determinante en los rasgos morfotípicos de las VENs (Allman et al., 2011; Cobos & Seeley, 2013; Duan et al., 2007). La disfunción o alteración en la expresión del gen DISC-1 se ha relacionado consistentemente con ciertos tipos de patología como el trastorno depresivo, la precariedad en el funcionamiento mental superior y de forma predominante con la esquizofrenia (Callicott et al., 2005; Chubb, Bradshaw, Soares, Porteous, & Millar, 2008; Duan et al., 2007; Hashimoto et al., 2006; Ozeki et al., 2003). La expresión del gen DISC-1 parece estar asociado al devenir filogenético de los homínidos en general y, particularmente, al ser humano. Se postula una asignación divergente otorgada específicamente a los exones 1 y 2 del gen DISC-1, que estarían uniéndose a MAP-2, determinando la organización dendrítica en relación con la actividad (Crespi, Summers, & Dorus, 2007; Szebenyi et al., 2005).

Un estudio realizado con 21 homínidos, entre los que se cuenta el ser humano (*Homo Sapiens*), el chimpancé común (*Pan Troglodytes*), el bonobo (*Pan Paniscus*), el gorila (*Gorilla gorilla*), el orangután (*Pongo Pygmaeus*), el gibón de borneo (*Hylobates Muelleri*) y el siamang (*Symphalangus syndactylus*), analizó la inmunotinción para el Factor Activador de la Transcripción 3 (ATF3), la cadena Alfa del Receptor de Interleuquina 4 (IL4R α) y Neuromedina B (NMB). Coherente con lo descrito previamente, las células de la lámina V ostentaron la mayor inmunorreactividad para las 3 proteínas, en promedio al alrededor del 82% (IL4R α 83%, ATF3 81%, NMB 82%). El cálculo de la proporción que representa cada tipo de célula de la lámina V en relación a la densidad total de cada tipo morfológico develó que las VENs tiene la mayor inmunorreactividad para cada una de las 3 proteínas en comparación con los otros tipos neuronales de la misma capa, incluyendo las células Piramidales (Figura 4).

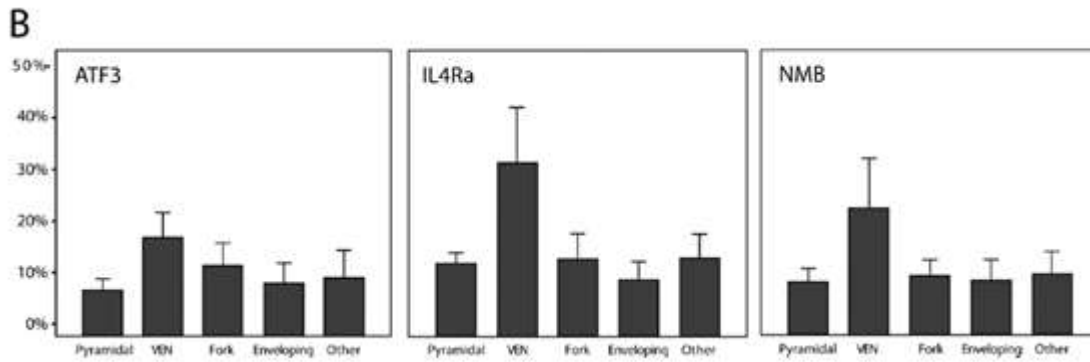


Figura 4: Porcentaje de neuronas inmunorreactivas a cada proteína con referencia al número total de neuronas marcadas con Nissl para cada tipo de neuronal. Tomado y modificado de Stimpson et al., 2011

De igual modo se halló un grado importante de variación filogenética en la inmunoreactividad de las VENs para 2 de las 3 proteínas: en el humano el marcaje para ATF3 e IL4R α fue significativamente mayor que en las otras especies, alcanzando respectivamente un porcentaje del 31% y 66% del total de la población de VENs. En el caso de NMB, a pesar de presentar la mayor reactividad dentro de toda la muestra de homínidos, la diferencia no fue significativa estadísticamente (Stimpson et al., 2011).

El ATF3, también conocido como Factor Activador de la Transcripción dependiente de AMPc (Adenosin Monofosfato Cíclico), es un miembro de la familia de los factores de transcripción de la activación en mamíferos (CREB) caracterizados por su respuesta al AMPc. Este factor se ha involucrado en funciones como la modulación del dolor en células de la medula espinal, así como por participar en la reacción del organismo frente a eventos estresores (Chen, Wolfgang & Hai, 1996; Latre et al., 2008). Dado que la actividad de la región anterior del Giro del Cíngulo se ha relacionado con la percepción desagradable del dolor, la presencia de ATF3 en dicha estructura podría hacer parte de los elementos necesarios para tal función (Rainville, Duncan, Price, & Bushnell, 1997; Stimpson et al., 2011). Respecto a la IL4R α , se sabe que es un tipo de receptor de la citoquina I que se liga a la Interleuquina 4 y 13 para la regulación de la Inmunoglobulina E, sirviendo como

mediador de respuestas alérgicas, particularmente el asma, en donde la corteza anterior del Giro del Cíngulo toma un papel importante (Rosenkranz & Davidson, 2010; Wenzel et al, 2006). También, a nivel central, se le ha ligado con reacciones inflamatorias y algunos estudios lo asocian con esquizofrenia (H Nawa, Takahashi, & Patterson, 2000; Hiroyuki Nawa & Takei, 2006).

En otro estudio, utilizando hibridación *in situ* e inmunohistoquímica para NeuN en 5 sujetos humanos de 3 meses, 6 y 65 años, se examinó la expresión de 6 factores de transcripción (SOX5, TBR1, FEZF2, CTIP2, LMO4 y FOXP1) y del factor remodelador de la cromatina (SATB2) en la corteza anterior del Giro del Cíngulo y la región anterior de la Ínsula. El objetivo fue proporcionar evidencias de los posibles blancos de proyección axonal de las VENs, teniendo en cuenta que la manifestación de estos marcadores puede estar asociada de forma específica a eferencias cortico-corticales (comisurales), cortico-talámicas y cortico-subcorticales. Se propuso que la interacción de estos marcadores pueden determinar el destino del axón, ya sea por vía de la orientación o por la represión de destinos alternativos (Cobos & Seeley, 2013). SOX5, TBR1, FEZF2 y CTIP2 tuvieron mayor expresión en las láminas profundas V y VI. Para el caso de TBR1 se observó predominante en la capa VI, con algunas neuronas de forma difusa en la lámina V. FEZF2 y CTIP2 ostentaron mayor marcaje en la sublámina Vb y mucho menos definido en la VI de lo observado para el factor TBR1. Para SATB2 y LMO4 se observó indiferenciadamente de la capa II a la VI. FOXP1 se expresó en las láminas III y IV, pero sólo intensamente en la III. Un análisis detallado sobre el perfil de expresión de los factores de transcripción de la sublámina Vb (capa cortical de localización de las VENs), mostro células de gran tamaño positivas para los factores FEZF2 y CTIP2, así como TBR1, aunque esta última con mucha menor frecuencia. Para el caso de las VENs en los sujetos de 6 años, las células que cumplían con los rasgos morfológicos distintivos fueron positivas en alto grado para FEZF2 y CTIP2 y cercano a un tercio de la población expreso SATB2 aunque de forma tenue. En menor proporción celular pero con un marcaje alto se observó TBR1. LMO4 evidenció una expresión alta y de

forma generalizada de la capa II a la VI, incluyendo en células con morfología distintiva para VENs. El análisis reveló un marcaje inversamente proporcional entre FEZF2 y SATB2.

Estudios previos en ratones han demostrado que la expresión del gen FEZF2 es determinante para la especificación de células localizadas en la lámina V, cuyos blancos axónicos podrían alcanzar estructuras subcorticales como los Núcleos de la Base, Colículos Superiores e inclusive Medula Espinal. CTIP2 se constituye como un coactor dentro de tal objetivo (B. Chen et al., 2008). SATB2 se ha postulado como promotor de la identidad de neuronas cuyo axón se proyecta comisuralmente (Alcamo et al., 2008) y TBR1 se ha identificado en relación a fibras cortico-talámicas. De tal forma y consecuente con los hallazgos, resulta coherente que FEZF2 y CTIP2 sean imprescindibles en la identidad de las células de proyección subcortical y que actúen concomitantemente con la supresión de SATB2 Y TBR1 (Alcamo et al., 2008; B. Chen et al., 2008; Cobos & Seeley, 2013; Srinivasan, Leone, Bateson, Dobrevá, & Kohwi, 2012). De acuerdo a esta investigación se sugiere que las VENs a pesar de responder predominantemente a factores de transcripción expresado en neuronas cuyos axones se extienden distalmente, podría hacerlo de manera más divergente, cursando incluso a través del cuerpo calloso (Cobos & Seeley, 2013).

2.5. DENSIDAD, DISTRIBUCIÓN Y ASIMETRÍAS HEMISFÉRICAS

Un estudio en cetáceos (ballena dentada, ballena beluga, ballena barbada, ballena jorobada, delfín mular y delfín risso), donde se estableció la presencia de las VENs en la región anterior del Cíngulo, región rostral de la Ínsula y el polo Frontal, indicó una distribución que reunía frecuentemente pequeños conjuntos de neuronas, que oscilaban entre 3 y cinco de estas. Dicha distribución, fue preferentemente característica de las crestas o coronas de las circunvoluciones, y difería de los valles o bancos, donde fue más dispersa.

El mayor número de VENs observadas se ha descrito a partir del tejido de la ballena jorobada, con una estimación de 24.180 células para la región anterior de Cíngulo, 28.770 en el sector rostral de la Ínsula y 24.900 para el polo Frontal, lo cual es equivalente a un porcentaje global del hemisferio derecho del 0,027. Los datos para el delfín mular, risso y la ballena beluga fueron bastantes similares: en el delfín mular (Hemisferio izquierdo) para la región anterior del Giro Cíngulo se describieron 1.850 neuronas y a nivel Subgenua 600, equiparable este último dato con un 0.009 %. Para el delfín risso (hemisferio derecho), en el sector anterior del Cíngulo se contabilizaron 1.650 VENs, 580 en el sector Subgenua, con un porcentaje calculado del 0.004%. Para la ballena beluga, en la región anterior del Giro Cíngulo se determinaron 370 células y en el sector anterior de la Ínsula 1.910, correspondiente al 0.012% y 0.061% respectivamente. En términos generales y dependiendo de la región, el porcentaje de las VENs varía entre el 0,01 y el 0,06. A pesar de que la ballena beluga no mostró el mayor número de VENs, si ostentó en la región Insular, el mayor porcentaje de todas las especies, paradoja que se explica por la menor densidad celular total (Butti et al., 2009).

Ulteriormente se llevó a cabo una búsqueda que incluía cetáceos, perisodáctilos, artiodáctilos (ballena de Groenlandia, ovejas, vaca, ciervos, caballos, cerdos e hydrax de roca) y humanos, en la cual se pretendió examinar las dos regiones analizadas por convención (Giro del Cíngulo e Ínsula), así como el polo Frontal y Occipital. Como se mencionó con antelación, las VENs, salvo ciertas excepciones, se encontraron casi en todas las especies y en todos los sectores de estudio. A diferencia de los estudios previos, también se describió su presencia (salvo en el humano y el hydrax de roca) en el polo Occipital y su localización se dio más allá de la lámina V, extendiéndose en algunas especies a la lámina II y III (Raghanti et al., 2014). Un hallazgo coherente con los reportes previos indicaba que la distribución de las VENs se daba en mayor densidad sobre la cresta de las circunvoluciones y no sobre los valles de estos (Butti et al., 2009).

Según los autores la cuantificación estereológica mostró una única correlación significativa, en este caso negativa, entre las VENs y el total de neuronas de la lámina V del polo Frontal (Spearman's rho: - 0.80, P: 0.02). De acuerdo con los resultados, la ballena de Groenlandia presentaba el mayor número de VENs para la región anterior del giro Cíngulo y la vaca para la porción anterior de la Ínsula y el polo occipital. El mayor porcentaje de VENs se observó para la ballena de Groenlandia con un 24% para el polo Frontal, 21% para el Cíngulo, 14% para la Ínsula y 3% para el polo occipital. En el caso de la vaca un 9% para el polo Frontal, 6% en el Giro Cíngulo, 8% para la Ínsula y 3% para el polo Occipital. En el cerdo, los valores corresponden al 6%, 8%, 3% y 1% en este mismo orden de los sectores. El ciervo 5%, 5%, 2% y 0,5%; la oveja 7%, 7%, 4%, 0,4% y en el caballo 11%, 15%, 5% y 2%, respectivamente. En los seres humanos, como se indicó anteriormente, las VENs estuvieron ausentes en el polo Frontal y Occipital. Para la región anterior del Cíngulo y la Ínsula la proporción fue del 13% y 11%, respectivamente. (Raghanti et al., 2014).

Los trabajos realizados en elefantes con dos hembras de las cuales tan solo una disponía de los 2 hemisferios, reportaron la presencia de las VENs en la corteza anterior del Giro del Cíngulo y la región frontal de la Ínsula en densidad significativa. Además hubo una aparición ocasional a nivel Prefrontal Dorsolateral, el polo Frontal y tan solo para el hemisferio derecho en el sector Subgenuar del Cíngulo y la corteza Frontal Dorsomedial. Para la corteza anterior del Cíngulo y el segmento frontal de la Ínsula, las VENs fueron más profusas en las crestas de los giros que en los valles o fondos de los surcos, lugar donde estuvieron casi ausentes (Hakeem et al., 2009), patrón que resulta compartido con otras especies (Butti et al., 2009; Raghanti et al., 2014). En términos generales la densidad celular en elefantes es menor que la reportada en el humano y en los grandes simios (Nimchinsky et al., 1999; Raghanti et al., 2014). Para el hemisferio derecho (Elefante 1), el número total de VENs para la Ínsula fue de 10.200, sobre una población neuronal total de 1.300.000. Respecto

al hemisferio izquierdo (elefante 1), la densidad celular total fue de 348.000 frente a 9.110 VENs. Según esta cuantificación, en la porción frontal de la Ínsula la cantidad de VENs equivale a 0.78% para el hemisferio derecho y 2.6% para el izquierdo. En concordancia con los hallazgos, los autores proponen que el número total de las VENs en el elefante es menor que lo descrito en humanos adultos (19.310 Vs 193.000), pero mayor que el promedio propuesto en grandes simios (19.310 Vs 6.950) (Allman et al., 2005; Hakeem et al., 2009).

En grandes simios y humanos la primera cuantificación de las VENs se llevó a cabo a partir del conteo en secciones de 1 milímetro en el giro Cíngulo, a la altura de la rodilla del cuerpo calloso, en donde se estableció la proporción en relación a la densidad total de la lámina V. En humanos, para este sector las VENs tendieron a agruparse de 3 a 6 neuronas, patrón que fue semejante en el bonobo. En el chimpancé y el gorila las concentraciones se daban para grupos más pequeños, en los que se visibilizaba entre 2 y 3 células. En el orangután su presencia fue circunstancial, sin criterios definitorios para su distribución (Nimchinsky et al., 1999). A partir de un análisis con el método “Nearest-neighbor” (Ramsahoye, n.d.), se reveló que las VENs estaban distribuidas con un grado de dispersión similar en el orangután (con un valor R: 2,11), el gorila (R: 1,74) y el Chimpancé (R:1,29). El esquema de agrupación fue mucho más cohesionado en el bonobo (R 0,80) y el humano (R 0,40). De acuerdo con un examen semicuantitativo en el orangután las muestras presentaban entre 7 y 10 VENs, en el Gorila 21,9 ($\pm$ 5,4), en el chimpancé común 37,1 ($\pm$ 9,4), en el bonobo de 60 a 75 y en el humano 88,7 ($\pm$ 14,6). Dicho estimado indica un 0,6% para el orangután, 2,3% para el gorila, 3,8% para el chimpancé común, 4,8% para el bonobo y 5,6% para el humano.

Posteriormente, un trabajo basado también en primates enfatizó sobre la presencia de las VENs en grandes simios y humanos. Para los seres humanos, en la región frontal de la Ínsula, 4 sujetos con edades comprendidas entre 50 y 86 años ostentaron una población de VENs correspondiente al 1.21%, 1.57%, 1.10% y

0.918% de la población neuronal total. Uno de los gorilas (39 años) presentó un total de VENs para el hemisferio izquierdo de 2.840 sobre una población celular total de 230.480 y un número de VENs para el hemisferio derecho de 3.770 sobre una densidad global de 186.670, lo que corresponde de manera global para este sector de la Ínsula a un 1,58%. En el bonobo, hemisferio izquierdo, 7.560 VENs sobre un total celular de 366.410 y para el hemisferio derecho 10.560 VENs, frente a 382.030 neuronas de la misma lámina. El porcentaje equivale a 2.42 %. En el chimpancé común, las VENs para el hemisferio izquierdo y derecho fueron 8.410 y 10.760 respectivamente, y la cantidad de células de la capa V fue de 419.800 y 484.920 en este mismo orden. La relación para esta porción Insular corresponde a 2.1%. Por último, para el orangután de Sumatra fue de 4,46%. En cuanto a la corteza anterior del Giro Cíngulo, la densidad en los sujetos humanos variaba entre 66.960 y 236.290 VENs para el hemisferio izquierdo y entre 102.290 y 383.650 para el hemisferio derecho. Los rangos porcentuales oscilaron entre 0,569% y 1,38%. En dos de los gorilas estudiados la proporción de las VENs fue de 2.12% y 2.14%, en el bonobo de 1.94%, en el chimpancé de 3.70% y en el orangután de 1,57%. En resumen, este grupo concluye que Las VENs son más numerosas en seres humanos que en los simios, pero que la relación porcentual es inversa dada la cantidad general de células de la misma lámina cortical (Allman et al., 2011).

En macacos (M Fascicularis y M Mulatta), en la porción agranular de la Ínsula se indica un promedio de entre 1500 y 2000 VENs por hemisferio, representando un valor estimado de entre el 2 y 3% de la población total (Evrard et al., 2012)

En humanos, se confirmó la presencia de las VENs en el área 24 y se identificó por primera vez su existencia en el área 9 de Brodman (Fajardo et al., 2008). Dichos autores plantearon que para el área 24 de Brodman, las VENs equivale a un 3% de la población total de las células de la lámina V, mientras que en el área 9 de Brodman tan solo a un 0,5%. Para el área 24 la distribución se da en grupos de 2 a 4 células, en contraste con el área 9 donde de forma aislada conforman grupos de

alrededor de 2 neuronas. El patrón de agrupación de las VENs en el área 9 se da de forma discontinua, alternando regiones pobladas y regiones carentes de este tipo celular.

Respecto a la distribución por hemisferios, como se mostró previamente, existe una asimetría en la cual la región frontal de la Ínsula del hemisferio izquierdo en el elefante presenta un porcentaje mayor de neuronas de Von Economo. Según los datos en el hemisferio derecho el número total de VENs fue de 10.200, sobre una población neuronal total de 1.300.000. En el hemisferio izquierdo el total de VENs fue de 9.110 y la densidad total de 348.000. Según estos datos, en la porción frontal de la Ínsula el número de VENs equivale a 0.78% para el hemisferio derecho versus 2.6% para el izquierdo (Hakeem et al., 2009).

Las asimetrías de la población neuronal general han sido referidas previamente para diferentes sectores corticales, como por ejemplo las áreas motoras del lenguaje (BA: 44,45) y la corteza motora primaria (BA:4) (Sherwood, Wahl, Erwin, Hof, & Hopkins, 2009; Uylings, Jacobsen, Zilles, & Amunts, 1999). Un estudio de relevancia clínica evidenció que la corteza anterior del Giro Cíngulo presenta una asimetría significativa, con un aumento del volumen en el hemisferio derecho (Gündel et al., 2004). También hay investigaciones que sugieren que la corteza Insular derecha es volumétricamente mayor en sujetos adultos (Allman et al., 2011). En recién nacidos (simios y humanos) la porción frontal de la Ínsula ostenta un número de VENs que es equiparable para los dos hemisferios, no obstante la asimetría parece darse en la medida que los sujetos se acercan cronológicamente a la adultez. En humanos postnatales la discrepancia interhemisféricas de las VENs en la corteza Insular fue estadísticamente significativa ($P: 0,0039$). Los datos combinados en Simios y humanos continuó siendo estadísticamente significativa a favor del hemisferio derecho ($P: 0,0001$). Para la corteza anterior del Giro del Cíngulo y, a pesar de ser menos consistente que en la Ínsula, la diferencia fue estadísticamente significativa,

tanto en humanos postnatales (P: 0,003), como cuando los datos fueron ajustados conjuntamente para simios y humanos (P: 0,001).

En macaco, tanto para Fascicularis como para Mulatta, al comparar el número de VENs por hemisferios en la región agranular de la Ínsula, se observó que existía una mayor cantidad de estas células en el hemisferio derecho, lo que resultó estadísticamente significativo (F1,5: 100,358; p: 0,0002). También se presentó una mayor proporción en la relación VENs/ piramidal, sin embargo esta no fue estadísticamente determinante (F1, 6: 4,213; p: 0,0953) (Evrard et al., 2012).

2.6. DESARROLLO FILOGENÉTICO

A partir del hallazgo de las células fusiforme en la región anterior del Giro Cíngulo y la porción frontal de la Ínsula en humanos (Von Economo, 1925; Betz, 1881), hoy conocidas como neuronas Von Economo, se consideró durante muchos años que estas pudieran responder a una tipología celular característica y definitoria para el Hombre (Allman et al., 2005). En la última década del siglo XX se realizó una búsqueda de las VENs en 28 especies que representaban la superfamilia de los Prosimios y primates Antropoides (Covert, 2012). En dicha búsqueda se halló su presencia en humanos y bonobo con una localización y distribución similar, en el chimpancé común en menor cantidad y en el orangután de forma esporádica. Estuvieron ausentes en el gibón, en monos del nuevo y viejo mundo (entre los que se cuenta el macaco), así como en todos los prosimios (Nimchinsky et al., 1999). Según estos autores, aunque la muestra no tuvo representación de familias como los cebidos y especies como el mono colobino, el cercopiteco y el siamang, la ausencia de las VENs en 23 familias de primates y el apoyo de los datos que sugerían la carencia de estas en 30 especies de mamíferos, incluyendo arctodáctilos y cetáceos (Hof et al., 1999), hacía poco factible la emergencia de estas por fuera de los grandes simios y humanos (Nimchinsky et al., 1999). Adicionalmente indicaron que estas neuronas estaban en la región anterior

(agranular) y en pequeños sectores disgranulares de la Insula de los grandes simios, pero ausentes en la del macaco y en los otros primates en los que se contó con muestras de dicha estructura. Tampoco, en ninguna de las 28 especies estudiadas, se observó las VENs en otras áreas neocorticales. De acuerdo a los resultados se propuso que la aparición abundante y selectiva de este tipo celular en el humano, el chimpancé y el bonobo (Genero Homo y Pan) podría ser producto de un refinamiento convergente de los rasgos anatómicos en la filogenia de los homínidos (Nimchinsky et al., 1999).

Como replica a este trabajo, un análisis basado en una gama amplia de primates enfatizó sobre la presunta presencia exclusiva de las VENs en grandes simios y humanos. Estas fueron halladas en la región frontal de la Ínsula y la porción anterior del Giro Cíngulo en humanos, gorilas, bonobo, chimpancé común y en el orangután de Sumatra. Este grupo propuso que las VENs respondían a un tipo de especialización reciente en el desarrollo filogenético propio de la evolución de los homínidos. Teniendo en cuenta que su densidad aumenta sobre las coronas o crestas de los giros, sugieren que dicho fenómeno es producto de una expansión diferencial residual, particularmente en el ser humano donde se experimenta un alto grado de girificación. De igual modo suponen que la densidad de las VENs no está en relación directa con el tamaño relativo del cerebro o coeficiente de encefalización, sino que responde a una correlación sustentada en su dimensión absoluta. Refieren, además, que cerebros de gran volumen constituyen el andamiaje estructural que apoya comportamientos socialmente complejos, los cuales demandan mecanismos neuronales que favorecerían la comunicación rápida entre regiones distales del encéfalo. En este panorama, la morfología de las VENs podría ser una respuesta adaptativa frente a situaciones y contextos sociales cambiantes (Allman et al., 2011).

Nuevos hallazgos inducirían a reformular las premisas sobre la presunta convergencia filogenética de las VENs en la familia de los homínidos. Estas células

fueron descubiertas también en diferentes cetáceos. Como aspecto llamativo, su distribución pareció darse de una forma más ubicua, con presencia no solo sobre las regiones del Cíngulo e Ínsula, sino también sobre otros sectores Corticales como el polo Frontal, la corteza Temporal Inferior, la corteza Occipital (región Ecto y Suprasilviana) y el córtex Paralímbico (Butti et al., 2009; Hof & Van Der Gucht, 2007). El alto grado de divergencia evolutiva entre los homínidos y los cetáceos (Cox, 1977) sugeriría un devenir evolutivo paralelo, en el cual se compartirían características funcionales que se esculpirían sobre ciertos rasgos neuroanatómicos e histológicos, entre los que se cuentan encéfalos de gran tamaño y una expansión neocortical preponderante. Se ha indicado que en los cetáceos el desarrollo de estructuras como la corteza Frontopolar, la región anterior del Giro del Cíngulo y de la Ínsula, responden al igual que en primates a las exigencias evolutivas, en la cual se requieren capacidades cognitivas y sociales altamente elaboradas (Allman et al., 2005; Butti et al., 2009; Hof & Sherwood, 2005; Hof & Van Der Gucht, 2007). La existencia de un tipo celular con morfología particular, su localización encefálica restringida en estas dos familias distantes en la filogenia y, la supuesta ausencia de las VENs en otras especies investigadas, insinuó que serían un rasgo compartido como respuesta a las demandas evolutivas y no simplemente un producto de la presión mecánica postnatal que conlleva grandes cerebros con abundante girificación. Los cetáceos se caracterizan por un alto grado de complejidad en sus conductas sociales y se ha evidenciado ostentan la capacidad de formar alianzas, organizar estrategias, utilizar herramientas, etc. (Herman, Richards, & Wolz, 1984; Krutzen et al., 2005; Lusseau, 2007; Mann, 1999; Reiss & Marino, 2001). Se ha propuesto que el polo Frontal en los cetáceos podría considerarse como un sector análogo a la corteza Prefrontal de los primates, y que cumpliría un papel determinante en el despliegue de funciones cognitivas. Según estos autores, Las VENs en el polo Frontal de los cetáceos podrían estar relacionadas con la organización y conectividad de sus procesos. En general y a pesar del replanteamiento del postulado “homínido-céntrico”, los nuevos hallazgos apoyaron la idea de que las VENs constituyen una adaptación neuronal necesaria para especies macroencefálicas, y que posibilitarían el procesamiento y transmisión

de información rápida a estructuras distales vinculadas con el desarrollo de conductas sociales complejas (Butti et al., 2009).

Casi simultáneamente se halló a las VENs en la corteza anterior y subgenual del Giro del Cíngulo, la región frontal de la Ínsula, la corteza Prefrontal Dorsolateral, el polo Frontal y la corteza Frontal Dorsomedial del elefante (Hakeem et al., 2009). En el elefante algunas observaciones han evidenciado la capacidad de autorreconocerse, así como de responder empáticamente frente a la adversidad de sus congéneres, sugiriendo un posible rol funcional de las VENs en éste sentido (Hakeem et al., 2009; Plotnik, de Waal, & Reiss, 2006). En este estadio, la idea del surgimiento independiente de las VENs dentro de los mamíferos de grandes cerebros y conductas sociales complejas ganaba relevancia. Este postulado generó la necesidad de cuestionarse sobre si otros mamíferos de cerebro grande pero con un menor despliegue de habilidades cognitivas y sociales (como el hipopótamo y la jirafa), contaban con la presencia de las VENs en áreas análogas a las halladas en homínidos, cetáceos y elefantes. En tal caso, esperarían que la existencia y morfología de las VENs estuviera asociada predominantemente al tamaño absoluto de los cerebros y no, necesariamente, como se había planteado hasta la fecha, con un plano enriquecido del comportamiento social.

En menos de una década nuevos hallazgos pondrían en tela de juicio la hipótesis establecida (Butti et al., 2014; Evrard et al., 2012; Raghanti et al., 2014). En el mono macaco se descubrió la presencia de las VENs, que además de darse para los sectores análogos del Giro del Cíngulo y la ínsula, se encontraban también, aunque en cantidad limitada, en el área 10 y 14. Las explicaciones que se dieron al hecho de no haber sido localizadas en esta especie en estudios previos, se relacionaba con aspectos metodológicos como la amplificación microscópica requerida para su identificación, la fragilidad frente a la preparación histológica de este tipo celular y la insuficiencia espacial del muestreo (Evrard et al., 2012).

La presencia de las VENs en el macaco introduce interrogantes sobre la reciente aparición en los primates de este arquetipo celular (entre 15 y 25 millones de años), así como de la supuesta evolución en paralelo como adaptación a las exigencias funcionales que se dan en especies de grandes cerebros (Allman et al., 2011; Butti et al., 2009; Hakeem et al., 2009; Pauc & Young, 2009;). En el humano la región anterior del Giro del Cíngulo y la corteza Frontoinsular están ampliamente relacionadas con procesos como la autoconciencia y la cognición social (Craig, 2009). En el mono macaco se ha observado que la porción anteroventral de la ínsula se asocian con procesamiento víscero-sensorial, las respuestas autonómicas y la estructuración del comportamiento frente a eventos estresores (Kaada & Pribram, 1949). Lo anterior insinúa que a pesar de escapar a la clasificación taxonómica de los grandes simios, las VENs podrían compartir una función análoga, aunque primitiva, tal vez vinculada principalmente a la conducta alimentaria (Kaada, Pribram, 1949; Price, 2007; Singer et al,1995).

Butti y colaboradores (Butti et al., 2014), reportaron una distribución más extendida de las VENs a nivel cortical en el hipopótamo Pigmeo, uno de los parientes sobrevivientes más cercano de los cetáceos (Butti et al., 2014; Raghanti et al., 2014). Más tarde se llevó a cabo una investigación que incluía cetáceos, perisodáctilos, artiodáctilos y humanos, en la cual se procuró examinar las regiones observadas clásicamente (Giro del Cíngulo e Ínsula), así como el polo Frontal y Occipital. Las VENs se encontraron casi en todas los especímenes y en todos los sectores estudiados. A diferencia de los hallazgos previos, se describió su presencia (excepto en el humano y el hydrax de Roca) en el polo Occipital (Raghanti et al., 2014). Si bien se había considerado que la densidad de las VENs en la corteza anterior del Giro Cíngulo y la porción Frontal de la Ínsula en el humano era mayor a la de los grandes simios, los cetáceos, el elefante y el mono macaco, este trabajo mostró, contradictoriamente, que varias de las especies analizadas tenían una cantidad mayor a la del hombre. Además en estos especímenes la distribución se dio de una forma mucho más ubicua.

Tras los hallazgos, se plantea la hipótesis de que las VENs son especializaciones morfológicas de neuronas Piramidales como respuestas a demandas funcionales para clados, familias, géneros e incluso individuos (Raghanti et al., 2014). También se postula que la aparición preferente de las VENs en la cresta de los giros puede estar asociado a la morfogénesis implicada por la presión mecánica propia de la girificación, dado que se considera que las células Piramidales de las láminas profundas no logran soportar dicha tensión, adquiriendo por ende la morfología fusiforme característica de las VENs (Essen, 1997). Se sugiere que la organización sectorizada sea la apomorfia a los odontocetos y misticetos, mientras que la distribución ubicua responde a la plesiomorfia de los laurasiaterios (los laurasiaterios son hipotéticamente un clado de mamíferos placentarios). Vale la pena aclarar que la apomorfia hace referencia a aquellas características emergentes y novedosas que se derivan de algún rasgo presente en ancestros próximos en la escala filogenética. En el caso de los rasgos compartidos se hace mención a la plesiomorfia. Otra idea propone que las VENs corresponden a un tipo celular primitivo que emergió con los mamíferos y que, por mecanismos no establecidos, posiblemente en relación a la girificación, desaparecería en muchas especies (Raghanti et al., 2014).

2.7 NEURONAS DE VON ECONOMO EN EL SER HUMANO

Como se ha indicado reiteradamente, la primera descripción de la presencia de las VENs y de sus características morfológicas fue realizada en el humano (Betz, 1981; Triarhou, 2013; Von Economo C, 1925;). Esta identificación se centró en la corteza anterior del Cíngulo y la porción frontal (agranular) de la Ínsula.

Nimchinsky y su grupo (Nimchinsky et al., 1999), también describieron las VENs en la región anterior del Giro Cíngulo, específicamente en la sublámina Vb, la que se caracterizaba por su baja densidad celular.

El análisis con el método “Nearest-neighbor” (Ramsahoye, n.d.), en la región anterior del Giro Cíngulo, mostró un grado de dispersión de $R: 0,40$. Los datos cuantitativos refieren un promedio de $88,7 \pm 14,6$ células por cada muestra de un milímetro y un porcentaje sobre el total de neuronas de la lámina V de 5,6%. El soma de las VENs es volumétricamente mayor ($20,822 \pm 8,731$) que el de las Piramidales de la capa V ($4,553 \pm 2,295$) y, aún más, que las fusiformes de la VI ($1,677 \pm 777$). En conclusión, las VENs en este estudio presentaron un patrón de agrupación más cohesionado que la observada en grandes simios. De igual modo, la densidad y proporción en relación a las piramidales de la misma capa es superior. La diferencia del volumen establecido para las células principales de la lámina V y las fusiformes de la VI también es mayor que el determinado en los otros primates analizados (Nimchinsky et al., 1999).

Respecto a la porción frontal de la Ínsula, otro estudio informó sobre su organización en forma paralela al eje radial de las neuronas de este sector, perpendicular a la sustancia blanca subcortical. Al igual que en los simios, se observó un pequeño número de células morfológicas por debajo de la lámina VI (sustancia blanca), las cuales estaban orientadas de manera ortogonal al eje de las Piramidales, por lo que este grupo asumió que su papel en términos funcionales era diferente. El total de VENs fue mayor en los Humanos, sin embargo el porcentaje en relación a la población global de células de la lámina V fue menor, dada la mayor densidad celular general para nuestra especie. Este dato no fue coincidente con lo hallado en la corteza anterior del Giro Cíngulo, donde el porcentaje de las VENs en comparación con las piramidales de la capa V superó a la de los simios. De acuerdo con lo observado en otros primates, se conserva una asimetría en favor de la cantidad y proporción de las VENs en el hemisferio derecho.

Las VENs de la región frontal de la Ínsula en humanos fueron positivas para el anticuerpo Neuromedina B (NMB) en comparación a los otros tipos celulares de la lámina V, sector donde se acentuó la inmunorreacción. También hubo una marcación positiva para el Péptido Liberador de la Gastrina, la Bombesina y el gen DISC-1, este último en algunos sujetos alcanzó un porcentaje de alrededor del 90% de las VENs (Allman et al., 2011). En el hombre, la expresión del gen DISC-1 se ha asociado al desarrollo filogenético a partir de una asignación divergente otorgada específicamente a los exones 1 y 2 del gen, lo cual parece jugar un papel determinante en la organización de la arquitectura dendrítica (Crespi et al., 2007; Szebenyi et al., 2005).

La investigación de perfil bioquímico para las VENs mostró la inmunoexpresión para el Factor Activador de la Transcripción 3 (ATF3), la cadena Alfa del Receptor de Interleuquina 4 (IL4R α) y el péptido Neuromedina B (NMB) en la corteza anterior del Giro Cíngulo y la región Frontoinsular. Las células de la lámina V en este análisis mostraron la mayor respuesta a estas proteínas. La proporción que representa la inmunorreactividad para cada tipo de célula de la capa V en relación a la densidad global de su grupo morfológico, fue mayor en las VENs que en las otras neuronas, incluyendo piramidales. En el humano el marcaje para ATF3 e IL4R α fue superior estadísticamente que en todos los otros homínidos (31% y 66% del total de la población respectivamente) NMB también presentó la más alta reactividad (Stimpson et al., 2011).

También en humanos, se perfiló la expresión de los factores de transcripción SOX5, TBR1, FEZF2, CTIP2, LMO4 y FOXP1 y el Factor Remodelado de la Cromatina (SATB2) en la corteza anterior del Giro del Cíngulo y la región anterior de la Ínsula. Un análisis centrado en las VENs (sujetos de 6 años), evidenció que fueron positivas en alto grado para FEZF2 y CTIP2. Cercano a un tercio de la población fue

inmunorreactiva para SATB2 aunque de forma leve. En menor valor pero intensamente se observó TBR1. LMO4 tuvo inmunomarcación alta y generalizada de la capa II a la VI, incluyendo las VENs. FEZT2 y SATB2 mostraron un marcaje inversamente proporcional. Según los resultados, la investigación propone que las VENs son un tipo celular cuyos axones, a pesar de proyectarse predominantemente a estructuras distales, podrían extenderse de manera divergente, alcanzando no solo estructuras subcorticales sino incluso sectores dentro de la corteza contralateral (Cobos & Seeley, 2013).

La búsqueda de las VENs en el Giro del Cíngulo, la Ínsula, el polo Frontal y Occipital en cetáceos, perisodáctilos, artiodáctilos y humanos, corroboró la existencia de estas neuronas en el hombre en las estructuras clásicamente descritas. La densidad respecto a la lámina cortical estimada correspondió al 13 y 11% respectivamente. Sin embargo, los resultados fueron negativos en la corteza Frontopolar y Occipital, donde no se halló células morfológicas (Raghanti et al., 2014). Si bien previamente se había considerado que el número y proporción de las VENs en el humano era mayor a la observada en otras especies, este trabajo mostró que especímenes muy distantes en la filogenia presentaban una cantidad más alta (Raghanti et al., 2014).

En 2008 se describió por primera vez la presencia de las VENs en humanos por fuera de los sectores del Cíngulo y la Ínsula convencionalmente definidos. Estas fueron halladas en el giro frontal superior, específicamente en el área 9 (figura 5). En este sector el porcentaje de las VENs equivale a un 0,5% y tienen un patrón de agrupación poco cohesionado, formando grupos en promedio de dos células. Dicho patrón es discontinuo, alternando regiones pobladas y regiones donde las VENs están ausentes (Fajardo et al., 2008).

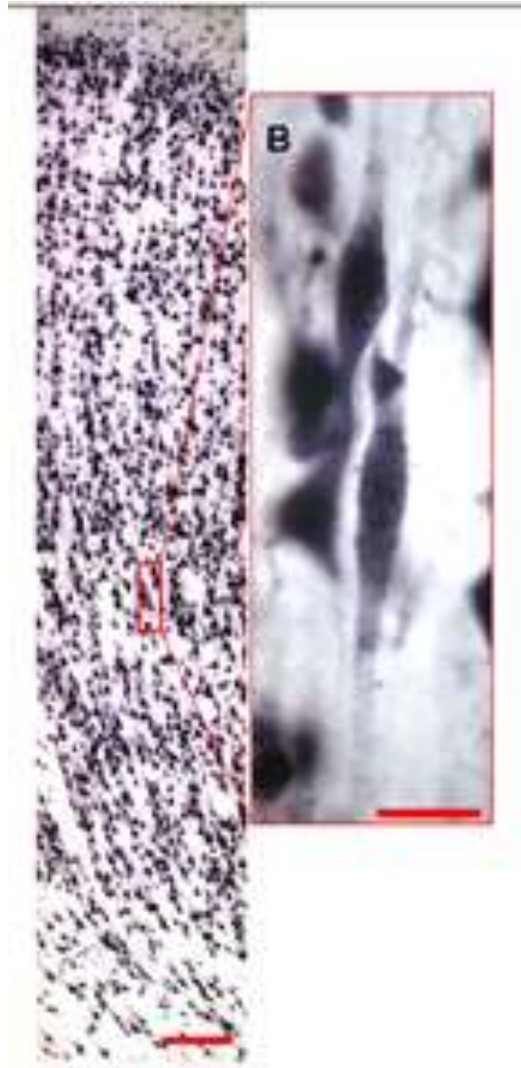


Figura 5: Tomado de Fajardo, et al., 2008.

2.8. DESARROLLO ONTOGENÉTICO

Los estudios que arrojan datos acerca de las características ontogenéticas relacionadas con las VENs son bastante reducidos. En la actualidad se considera que este tipo celular, a pesar de estar presentes en Primates en las últimas semanas de gestación, no ostenta los rasgos de densidad, localización y distribución sino hasta después del parto. Ello ha planteado el interrogante de si las VENs son el resultado de la neurogénesis postnatal o, si en su defecto, son el producto de la

transformación morfológica de un tipo de célula preexistente (Allman et al., 2011). Al igual que en humanos, en el chimpancé se observó que alrededor de las dos semanas previas al término fetal ya había presencias de las VENs (Hayashi, Ito, & Shimizu, 2001). No obstante, la proporción de las VENs en la corteza anterior del Cíngulo en el chimpancé prenatal correspondía al 5,2%, un estimado mucho mayor al hallado en fetos humanos (figura 6), y que sugeriría que el desarrollo ontogenético de las VENs en el Hombre es tardío en comparación con su pariente más cercano (Allman et al., 2011).

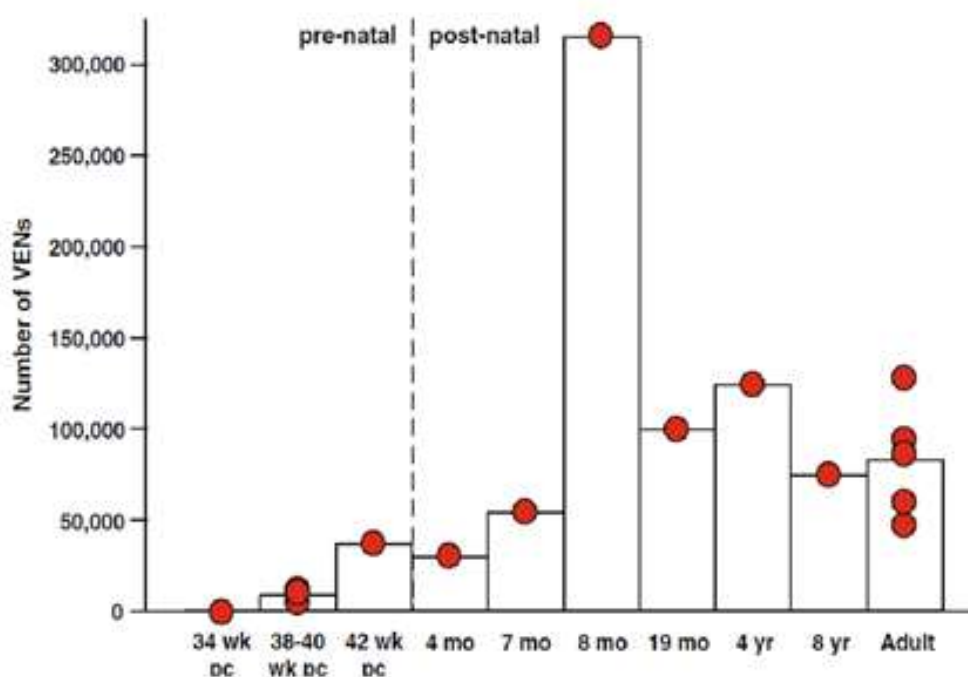


Figura 6: Numero de VENs en relación a la edad de los sujetos pre y postnatalmente. Tomado de Allman et al., 2011

Se considera que la densidad de las VENs en el hombre alcanza su cúspide alrededor de los 4 años, edad en la cual es similar a la descrita en sujetos adultos (Allman et al., 2011; Butti et al., 2013). Según estos reportes, las VENs emergen sobre la semana 35 de gestación, su presencia en la región anterior del Cíngulo es escasa, sin embargo en la porción frontal de la Ínsula derecha llega a 37.700

neuronas. Este valor se incrementa 8 veces para este hemisferio, en contraste con un aumento de 4 veces para el izquierdo. En el caso de la corteza anterior del Giro del Cíngulo, la asimetría no es significativa, teniendo un promedio bihemisférico de 200.000 VENs. Después de los 8 meses postnatales el número de VENs decrece tanto en el Giro Cíngulo como en la Ínsula, pasando de un 4,3% a un intervalo entre el 1 y el 2% (Allman et al., 2011; Butti et al., 2013). Ver figura 7.

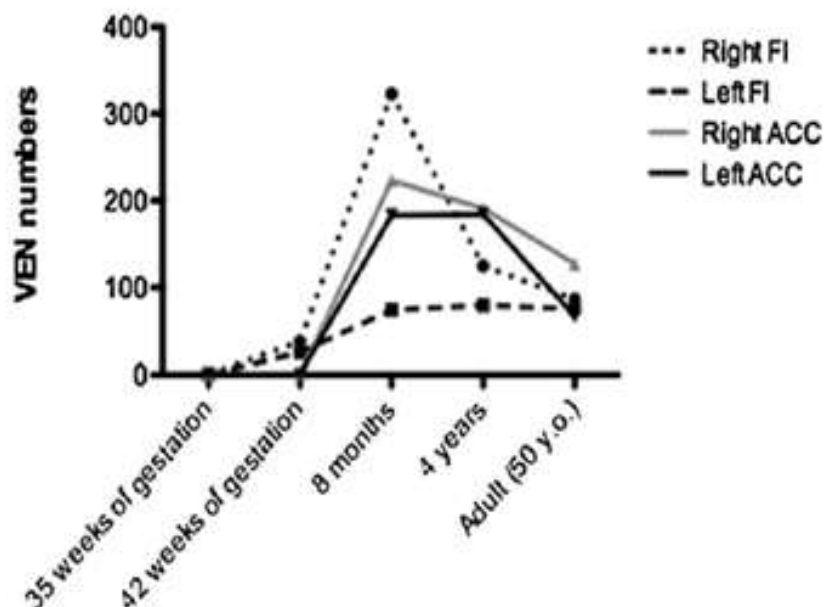


Figura 7: Esquema que representa el número de VENs durante el desarrollo pre y postnatal. Tomado de Butti et al, 2013.

2.9 ASPECTOS FUNCIONALES Y PRESUNTO ROL EN ALGUNAS ENTIDADES NEUROPATOLÓGICAS

En la interacción social se requiere de la asignación al otro de sentimientos y pensamientos, aspectos que en conjunto podríamos denominar como estados mentales. A diferencia de los juicios que demandan una acción deliberada, las intuiciones son rápidas y marcadamente permeadas por sesgos emocionales. Estas permiten la evaluación de múltiples factores dentro de un mismo contexto para la

toma de una decisión inmediata (Allman et al., 2005). Se sabe que en situaciones donde la posibilidad de realizar una valoración extensa es poca y se genera un alto grado de incertidumbre, la región anterior del Cíngulo y la porción frontal de la Ínsula presentan una mayor activación (Critchley, Mathias, & Dolan, 2001). También se ha demostrado su actividad frente a la vivencia subjetiva del dolor, la culpa, la vergüenza y el engaño (Critchley, Mathias, Dolan, et al., 2001; Shin et al., 2000; Singer, Seymour, O'Doherty, Kaube & Dolan, 2004). De igual modo se han implicado en los vínculos de confianza y el establecimiento empático (Ao et al., 2014; Baron-Cohen et al., 1999; Butti et al., 2013; Cauda et al., 2013; Singer, 2004). En este panorama se considera que las VENs juegan un papel determinante, dado su rol conectivo entre estas estructuras y otros centros cerebrales (Allman et al., 2005). Los rasgos morfológicos de las VENs, a saber una arborización dendrítica poco tortuosa y presuntamente un axón robusto de cuyo sostén metabólico y estructural da cuenta el soma de gran tamaño, las relacionan funcionalmente con el procesamiento y transmisión de información rápida a sectores distales (K. K. Watson et al., 2006). Atendiendo a su morfología y dada su localización anatómica, se ha sugerido su rol en el ámbito social, particularmente para el análisis intuitivo y la generación de respuestas emergentes en medios cambiantes, características inherentes a la complejidad interactiva de los homínidos (Allman et al., 2005).

Se ha hipotetizado sobre el grado de vulnerabilidad de las VENs en diversas alteraciones, la relación con su reciente aparición en la escala filogenética y las posibles implicaciones de la proliferación y desarrollo tardío en la ontogenia (Allman et al., 2005). Se ha demostrado la disfunción de la región anterior del Cíngulo y frontal de la Ínsula en patologías como la psicosis, el trastorno obsesivo compulsivo y el síndrome de asperger (Soderstrom, 2003; Rauch, Jenike, Alpert, Baer, Breiter, Savage, 1994;). En el caso del autismo, hay evidencias experimentales directas e indirectas que indican cambios en la cantidad, ubicación y morfología de las VENs. Una investigación basada en resonancia magnética funcional mostró una reducción volumétrica importante de la porción anterior del Giro Cíngulo derecho en pacientes autistas, lo que otorga relevancia a las VENs, dada su alta densidad en este sector

y la asimetría descrita para tal hemisferio. También se han reportado cambios a nivel de la sustancia blanca de esta región y en los patrones de laminación cortical caracterizado por heterotopias y localización atípica de las VENs (Allman et al., 2005; Bailey et al., 1998; Barnea-Goraly et al., 2004). La porción frontal de la Ínsula ostentó menos activación en sujetos autistas cuando se enfrentaban a tareas que demandan la asignación de estados mentales a individuos representados en fotografías (Baron-Cohen et al., 1999). Otro estudio informó sobre ciertos rasgos atípicos de las VENs en la división frontal de la Ínsula (Santos et al., 2011). Según estos autores mostraban un soma hinchado, la presencia de Oligodendrocitos convergentes y superposición celular.

Al compararlo con los controles, se observó en los sujetos autistas sectores corticales con una muy baja densidad celular, en donde las VENs estuvieron casi ausentes. En otras regiones se reportó una proporción VENs/piramidal mucho mayor para los individuos autistas (Santos et al., 2011). Según estos autores los cambios en la densidad de las VENs son producto de defectos en la migración, organización laminar y en la muerte celular programada. El aumento en la cantidad de las VENs, ha sugerido ser la base etiológica del incremento en la interocepción, lo cual se ha perfilado como un rasgo clínico del autismo (Craig, 2009; Santos et al., 2011).

La agenesia del cuerpo calloso es una alteración caracterizada por cambios en los patrones de comportamiento social y emocional. Entre estos contamos con aplanamiento afectivo e incapacidad para dar cuenta del componente emocional (alexitimia), así como déficit en la asignación de estados mentales, la autoconciencia, el juicio social, entre otras (Brown, & Paul, 2000; Devinsky & Laff, 2003; Gündel et al., 2004; Parker, Keightley, Smith, & Taylor, 1999; Paul et al., 2007; TenHouten, Hoppe, Bogen, & Walter, 1986). Un estudio comparativo mostró una localización atípica de las VENs en la agenesia del cuerpo calloso y una reducción

importante en el número de estas células en la Ínsula frontal y la región anterior del Cíngulo (Kaufman et al., 2008).

Los datos indican que aproximadamente el 5% de las personas diagnosticados con esquizofrenia se suicidan (Palmer, Pankratz, & Bostwick, 2005). El perfil de personalidad de estos individuos se ha caracterizado por un agudo aislamiento social, así como una valoración negativa de sí mismos. Paradójicamente, los pacientes con un alto grado de introspección y conciencia de sus alteraciones ostentan una mayor propensión a poner fin a su existencia, conducta que ha sido explicada como un mecanismo orientado a menguar su padecimiento afectivo (Brüne et al., 2011; Gilbert et al., 2010; Lysaker, Roe, & Yanos, 2007; Schwartz, R. C., & Smith, 2004). En un trabajo basado en método de imagen funcional, se ha observado que las porciones anteriores del Giro Cíngulo y la corteza Insular presentan una activación significativa en situaciones de sufrimiento emocional, en la crítica autodirigida y la exclusión social (Longe et al., 2010; Material et al., 2008). En 2010 ya se había probado una reducción general de la capa Vb de la región anterior del Cíngulo y de las VENs específicamente en casos de esquizofrenia de origen temprano (Brüne et al., 2010). Ello posibilitó la hipótesis de que las VENs podrían estar implicadas en los cambios experimentados por estos sujetos fallecidos de forma suicida. En 2011 se realizó un estudio en el que se encontró, contrariamente, que este tipo de sujetos tienen una mayor densidad y mayor patrón de agrupación de las VENs en la corteza anterior del Giro Cíngulo en comparación con los pacientes psicóticos que murieron por causas naturales (Brüne et al., 2011).

En 2006 una investigación enfatizó sobre el deterioro de la conducta social y emocional en una variante de la demencia frontotemporal (DFTv), así como de la implicación de la región anterior del Cíngulo y la corteza Frontoinsular. Este grupo centró su atención en la afectación sufrida por las VENs en tal patología, y la comparó con pacientes diagnosticados con la enfermedad de Alzheimer (EA) y sujetos control. Los hallazgos indicaron una pérdida selectiva de este tipo neuronal

en la porción anterior del Giro Cíngulo, la cual alcanzó una disminución hasta del 74%. No hubo cambios cuantitativos importantes para la EA. También refirieron cambios en la morfología de las VENs (Seeley Carlin, Allman, Macedo & Miller, 2006). Posteriormente, un trabajo confirmó en una muestra más amplia (21 con DFTv, 10 con EA y 10 controles) la vulnerabilidad selectiva de las VENs en el Giro Cíngulo. En este caso, la degeneración neuronal correspondió al 53% y 41% en comparación con los controles y las personas con EA respectivamente (Santillo et al., 2013). Este mismo equipo enfatizaría la fragilidad específica y predominante de las VENs en relación con las células de las láminas supragranulares II y III (Santillo & Englund, 2014). Dicho estudio sería replicado para observar el comportamiento de las VENs en el sector frontal de la ínsula, encontrando resultados similares (Kim et al., 2012).

2.10 ANATOMÍA DEL ÁREA 10: LOCALIZACIÓN

Una característica que define el desarrollo cortical de los primates es el crecimiento asimétrico de las regiones asociativas, de mayor expansión, versus la relativa lentificación de los sectores sensoriales. Entre estos territorios de rápida evolución contamos la corteza Prefrontal (Kaas, 1995; Krubitzer & Kaas, 2005; Weinberg, 1997). El córtex Prefrontal se extiende por delante del área premotora hasta el polo Frontal. En el ser humano se ha calculado alcanza un 29% del total del volumen de la Corteza (Buriticá & Pimienta, 2007). Dada su localización, la corteza Prefrontal tiene representación en las superficies lateral, orbital y medial. En la cara lateral, hallamos las áreas 9, 46, 11, 12/47 y 10. En la basal u orbital encontramos las áreas 14, 13, 11, 12/47 y 10. En la superficie medial se observan las áreas 24, 25, 32, 9 y 10.

El área 10 fue descrita inicialmente por Brodman en las superficie medial y lateral, no obstante posteriores estudios citoarquitectónicos en primates no-humanos permitieron extenderla a la cara orbital (Walker, 1940). El área 10 puede dividirse

en relación a su origen, de tal modo la porción orbitaria tendría su origen en estructuras olfatorias (Paleocórtex) y los sectores mediales y laterales se extienden a partir del giro Hipocampal (Arquicórtex) (Barbas & Pandya, 1989). En la superficie medial, el área 10 abarca hasta la vecindad del Cuerpo Calloso, en la región subgenual del Giro Cíngulo, también conocido como área Septal.

El área 10 de la superficie medial se ha subdividido, en sentido posteroanterior, en medial (10m), rostral (10r) y polar (10p) (Örgür, Ferry & Price, 2003; Petrides & Pandya, 1999; Rajkowska, 1995). Para el objetivo del presente trabajo haremos referencia específica a la porción polar (10p) (figura 8). Los límites anatómicos del área 10p corresponden al área 9, ubicada dorsal y posterior; el área 32, 24 y 25, las cuales hacen parte de los 2/3 anteriores del Giro Cíngulo y que se extienden de forma caudal-rostral desde la región supra- a la sub-callosa, esta última por delante de la Lámina Terminal. Posterior al área 10p se hallan las porciones 10r y 10m respectivamente (Ongür, D., Ferry, A.T. & Price, 2003).

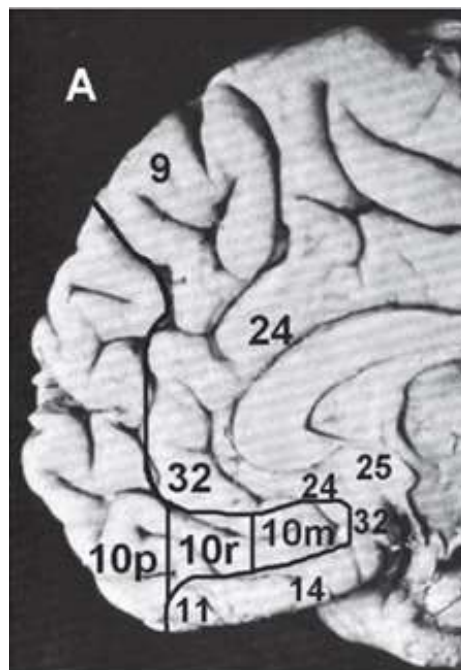


Figura 8: localización del área 10 en la superficie medial según la nomenclatura Örgür y col (2003). Tomado y modificado de Buriticá-Ramírez & Pimienta-Jiménez, 2007.

2.11. CITOARQUITECTURA DEL ÁREA 10

En 2005 se publicó una descripción sobre la organización citoarquitectónica del área 10 polar en su cara medial en la cual se indicó el espesor relativo de sus láminas. Según este estudio, la capa I tendría un espesor del 10.98%, la II 8.86, la III 31.44%. El porcentaje total de las capas supragranulares (II y III) corresponde al 40.30%. Las láminas profundas IV, V y V presentan respectivamente un grosor del 9.00, 16.58 y 23.14%. La sumatoria de las capas infragranulares es del 39.72% (Perlaza, Buritica, Umbarila, Arteaga, & Pimienta, 2005). De acuerdo con estos autores en el área 10 la lámina I cuenta con células de forma granular y con la menor densidad de todas las láminas. La lamina II una densidad alta, donde se observaba neuronas de apariencia granular y Piramidales pequeñas. En la III se evidenció predominantemente Piramidales, las que aumentaban su tamaño en la profundidad de la capa. La IV era delgada con una mediana definición laminar. La V ostenta una densidad neuronal intermedia, con células Piramidales pequeñas y medianas. Por último la lámina VI era claramente diferenciable, tanto en sus límites con el sector profundo de la V como con la sustancia blanca subcortical (Perlaza et al., 2005).

En 2007 se realizó un trabajo que especificó la organización neuronal de la región polar (p) del área 10 medial. Según los hallazgos, para la expresión de NeuN no se encontraron asimetrías interhemisféricas entre las áreas homólogas. En acuerdo con estudios previos (Perlaza et al., 2005), la lámina III presentaba el mayor espesor, el cual alcanzaba un total de 36.2%. Seguidamente las capa VI con un 27.8% y la I con un aproximado del 12%. Las láminas V, II y IV obtuvieron valores que oscilaban en el rango de 6.8 y 9.4%. No hubo discrepancias significativas en el grosor relativo de las capas supra e infragranulares (Buriticá, 2007). La mayor densidad celular en orden descendente fue de alrededor de 34.4% (LIII) y 23,6 (LVI). Consecutivamente, las láminas V, II Y VI con un numero cuyo valor se movió entre 10.8 y 13.9%. En el caso de la capa V se observó una subdivisión en 2 capas, Va y Vb. La subcapa Vb presentó un decremento de la cantidad neuronal. La lamina I

mostró la menor densidad (Buriticá, 2007). Si se considera que la distribución cortical es un indicador del patrón de conexión y que, las capas supragranulares refieren relaciones cortico-corticales (ipsi y contralaterales) y las infragranulares cortico-subcorticales (talámicas, estriatales, al tallo, etc.), es posible sugerir que el área 10 se proyecta proporcionalmente a la misma corteza como a estructuras por fuera de ésta. Sin embargo y, a pesar de que no hay diferencias importantes entre el espesor a nivel supra e infragranular, la prominencia de la lámina III (principal origen de los axones eferentes comisurales) podría insinuar un papel determinante en la integración bihemisférica (Buriticá & Pimienta 2007).

2.12 CONECTIVIDAD DEL ÁREA 10

Los datos sobre conectividad del polo Frontal en humanos se han establecido principalmente correlacionando la conectividad derivada de los macacos con la citoarquitectura y organización laminar propia del humano y de estos otros primates. De esta manera, según los autores, puede predecirse dicha conectividad hasta en un 80% (Barbas, 1997). De la porción medial del área 10 polar (10p), se han señalado conexiones bidireccionales cortico-corticales con regiones del Frontal en sus tres superficies, así como con el área homóloga contralateral. De tal modo se le ha relacionado también con las áreas 9, 46, 8, 32, 24 y 14. A su vez se han referido fibras eferentes hacia sectores filogenéticamente antiguos del Giro Cíngulo, como el área 23, 29 y 30 (Cavada, Compañy, Tejedor, Cruz & Reinoso, 2000; Morecraft & Van Hoesen, 1993; Petrides & Pandya, 1999). Se sabe de conexiones del área 10 con el lóbulo Temporal, las cuales vinculan el giro Temporal Superior, incluyendo las áreas 41-42, el giro Parahipocampal y el polo del Temporal (Bachevalier, Meunier, Lu & Ungerleider, 1997; Cavada, Compañy, Tejedor, Cruz & Reinoso, 2000; Kondo, Saleem & Price, 2003).

A nivel subcortical se describen conexiones que constituyen un circuito Cortico-Tálamo-Cortical, con eferencias que parten de la lámina VI y V profunda y aferencias

que arriban a la capa IV y parte profunda de la III (Erickson & Lewis, 2004). Se conoce la participación del área 10, específicamente de la porción polar de la cara medial (10p) en el circuito Cortico-Estriado-Tálamo-Cortical. Este sector enviaría fibras a la cabeza del Núcleo Caudado, que a su vez se proyecta al Pálido Interno y de éste al núcleo Dorsomediano del Tálamo, el cual cerraría el circuito estableciendo proyecciones al área 10 (Ferry, Öngür, An & Price, 2000). Además de las fibras provenientes del Dorsomediano, se han indicado aferentes de la división medial del Pulvinar (Romanski, Giguere, Bates & Goldman-Rakic 1997). El área 10 medial se relaciona ampliamente y de forma recíproca con el Hipotálamo, tanto en la región anterior, Tuberal y posterior, prevalentemente en la parte medial de estos (Rempel & Barbas, 1998). De igual modo se han evidenciado aferencias y eferencias a los Núcleos Basales del Telencéfalo, principalmente al núcleo Basal de Meynert y en menor medida la Banda Diagonal de Broca (Ghashghaei & Barbas, 2002) y con estructuras distales como la Sustancia Gris Periacueductal (Ongür & Price, 2000). Por sus relaciones con esta última estructura, así como con diferentes sectores del Hipotálamo, el área 10 medial se piensa está vinculada en la regulación de la actividad autonómica y emocional (Brüne et al., 2010; Buriticá & Pimienta, 2007; Pauc & Young, 2009).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL:

- Examinar la presencia de las neuronas de Von Economo en la región polar del área 10 medial de la corteza cerebral humana.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Registrar la presencia de las neuronas de Von Economo en la región polar del área 10 medial.
- Establecer un estimado sobre la cantidad y proporción de las neuronas de Von Economo en relación a las células Piramidales de la capa Vb de la región polar del área 10 medial.
- Identificar posibles diferencias en la distribución de las neuronas de Von Economo entre crestas y valles de la región polar del área 10 medial
- Determinar el tamaño del soma de las neuronas de Von Economo y compararlo con el de las neuronas Piramidales de la misma lámina y con las Fusiformes de la capa VI de la región polar del área 10 medial.
- Establecer posibles diferencias entre crestas y valles respecto al tamaño de las neuronas de Von Economo localizadas en la región polar del área 10 medial.
- Identificar posibles asimetrías interhemisféricas en la densidad y tamaño de las neuronas de Von Economo en la región polar del área 10 medial.

4. METODOLOGIA

4.1 MUESTRA HISTOLOGICA.

Las muestras sobre las cuales se realizó el presente estudio se extrajeron de la superficie medial del área 10 polar (10p) de los dos hemisferios de 5 sujetos humanos, tal como se reporta en la siguiente tabla (tabla 2).

Sujeto	Sexo	Edad	Mecanismo de lesión para el deceso	Tiempo Postmortem (Hrs)
1	F	41	Herida en tórax por arma cortopunzante	10
2	M	20	Herida en tórax por arma de fuego	9
3	M	26	Herida en tórax por arma de fuego	8
4	M	22	Herida raquimedular por arma de fuego	14
5	M	20	Herida raquimedular por arma de fuego	8

Tabla 2: Características de los sujetos para la muestra histológica

Los cerebros de donde se tomaron las muestras fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, regional Bogotá. Los criterios para su selección fueron la ausencia en el dictamen médico forense de historial de enfermedad psiquiátrica, neurológica, así como trauma o edema cerebral al momento de la colección. En total se obtuvo muestras de 10 cerebros, no obstante luego del procedimiento inmunohistoquímico llevado a cabo en el Centro de Estudios Cerebrales se descartaron 5 de estos. Ello dado que en 3 se observó

atrofia neuronal a nivel supragranular y los 2 restantes presentaron alteraciones en la expresión de los marcadores utilizados. El presente trabajo de investigación se realizó en base a los 5 cerebros que, de acuerdo con el nivel de experticia de los expertos del Centro, mostraron una inmunotinción adecuada. Es importante considerar que los 3 cerebros reportados con atrofia neuronal para las láminas II y III en el área 10p medial, coincidían con sujetos mayores de 69 años. La información de cada sujeto se extrajo directamente de los protocolos tramitados por los patólogos del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses de la regional Bogotá y, posteriormente, se procedió a tomar las muestras en la sala de necropsia. Además de los aspectos ya mencionados, no se tuvo en cuenta variables como la edad, el sexo, condiciones socioeconómicas, etc.

La metodología usada fue aprobada por el Comité de Ética Humana de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle (según Acta No. 065 de 2005) y del Comité de Investigaciones del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Todas las muestras fueron codificadas y actualmente no hay posibilidad de identificar los sujetos de los que proceden los tejidos, garantizando su privacidad y confidencialidad. La investigación se consideró de bajo riesgo y cumplió con los principios éticos de la Declaración de Helsinki.

4.2 SELECCIÓN DEL TEJIDO Y PROCESAMIENTO

4.2.1 LOCALIZACIÓN MACROSCÓPICA Y TOMA DE MUESTRA DE LA REGIÓN POLAR DEL ÁREA 10 EN LA SUPERFICIE MEDIAL

Se inicia el procedimiento con la distinción del polo anterior de la corteza Prefrontal. Posteriormente, se expuso la cara o superficie medial de los hemisferios y se seleccionó un giro a 1cm sobre el dorso de la convexidad Ventromedial y a 0.5cm en dirección ventral de la dorsomedial en la corteza Frontopolar. Se tomó una

muestra de 1cm³ que alcanzó hasta la sustancia blanca subcortical. El sector es ilustrado en rojo en la figura 9.

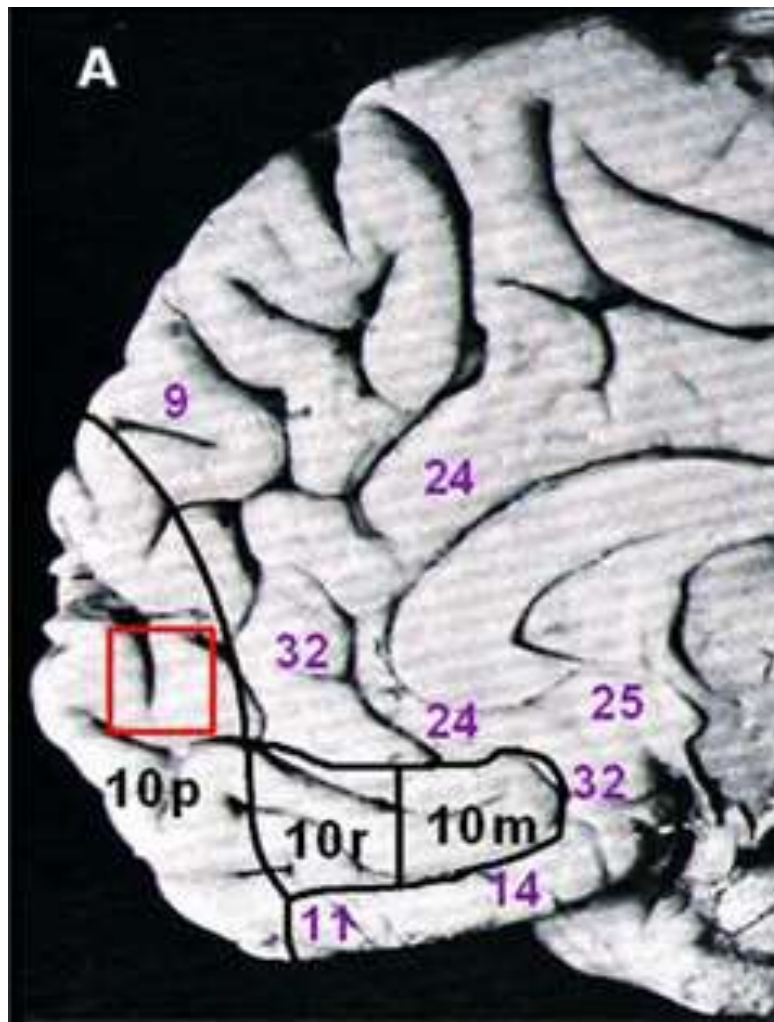


Figura 9: Tomado de Buriticá-Ramírez, E. (2007); modificado de Pimienta y Cruz (1986)

4.4.2. PRESERVACIÓN DEL TEJIDO

Con el objetivo de remover los posibles excesos de sangre, las muestras del tejido fueron inmersas en solución salina al 10% durante un periodo de 10 minutos. Luego para el proceso de fijación se individualizaron en recipientes que contenían una sustancia compuesta de paraformaldehído, lisina y metaperiodato de sodio. Se

conservó un pH de 7.4 y una temperatura de 4 grados centígrados por un laxo de tiempo de entre 7 y 10 días.

4.2.3 CORTE DEL TEJIDO HISTOLÓGICO

De acuerdo a las coordenadas descritas, los respectivos giros de las superficies mediales del área 10p en los dos hemisferios fueron cortados coronalmente a un espesor de 50µm. Para ello se utilizó un vibrátomo *Lancer Vibratome series 1000®*. Como medida de control los cortes iniciales se tiñeron con azul de Toluidina, lo cual permitió comprobar la integridad y orientación. Estos hallazgos se confirmaron después de la inmunohistoquímica, teniendo como criterio la identificación de la totalidad de la corteza (desde la lámina I hasta la sustancia blanca subcortical) y la distribución vertical de las dendritas apicales de las células Piramidales hasta alcanzar la lámina I. Las muestras seleccionadas se sometieron a procesamiento inmunohistoquímico con el anticuerpo Anti-NeuN. Pretendiendo la mayor homogeneidad y rigurosidad metodológica, se procesaron en simultaneo 3 cortes de cada hemisferio para todos los sujetos.

4.2.4 PROCEDIMIENTO INMUNOHISTOQUIMICO.

Los cortes de los sectores seleccionados en los dos hemisferios para cada sujeto fueron expuestos de forma consecutiva a reacción inmunohistoquímica con el anticuerpo Anti-NeuN (Monoclonal Anti-neuronal nuclei – NeuN. Chemicon Internacional – MAB377R). NeuN permite la inmunomarcación de los núcleos y somas de las neuronas inespecíficamente, posibilitando la identificación de la población general de la corteza (Gittins & Harrison, 2004). Este procedimiento fue llevado a cabo a temperatura ambiente (24°). Para la prueba control se destinó un corte negativo para la inmunohistoquímica, este se realizó de manera habitual, no obstante en ausencia del anticuerpo primario.

Para impedir la acción de la peroxidasa endógena, los tejidos se introdujeron en una mezcla de Peróxido de Hidrogeno al 0,3% y Metanol absoluto al 30% por un tiempo de 12 minutos. Después de esto, son lavados cada 5 minutos en tres ocasiones con *Phosphate Buffer Saline (PBS con pH de 7.4)*. Este procedimiento de lavado se repitió luego de cada una de las incubaciones de la inmunohistoquímica. Con el objetivo de evitar la adhesión a antígenos no específicos se utilizó por 40 minutos y al 1.5% en PBS un suero normal de caballo (ver kit ABC Vectastain - Elite PK-6102 Mouse IgG, Vector Laboratories®). Posterior a ello los cortes se incubaron con el anticuerpo específico por 18 horas. El anticuerpo Anti-NeuN fue diluido con Tritón X-100 al 0.5% (Anti-NeuN, diluido 1:2500). Tras este proceso se incubaron los cortes por 40 minutos en el anticuerpo secundario Biotinilado (ver Kit ABC Vectastain - Elite PK-6102 Mouse IgG, Vector Laboratories®) y en solución Avidina – HRP (ver Kit ABC Vectastain – Elite PK – 6102 Mouse IgG, Vector Laboratories®). La dilución en el anticuerpo secundario fue de 1:200 en PBS. Para finalizar se incubaron en una composición con Diaminobencidina al 4%, Peróxido de Hidrogeno al 2% (ver Peroxidase substrate Kit: DAB SK – 4100, Vector Laboratories®) y Níquel al 2% en PBS por 8 minutos.

Ya con el tejido sometido a la inmunomarcación, se montan los tejidos en placas de vidrio cromoaluminadas que luego son lavadas con agua destilada y llevadas a deshidratación con alcoholes y xiloles. Se finaliza con una cubierta de montaje histológico (Fisher Permount Mounting Medial®) y una laminilla cubreobjetos. En los cortes inmunotratados se evaluó el patrón de organización hexalaminar de los somas según lo reportado convencionalmente en la literatura, así como la ausencia de marcación en la sustancia blanca subcortical.

4.3 PROCEDIMIENTO DE REGISTRO

Las placas histológicas contenían 3 cortes con marcación para el anticuerpo Anti-NeuN. En general cada corte correspondía a toda la extensión del giro seleccionado

en la superficie medial del área 10p, donde se podía distinguir un sector que hacia parte de la cresta y otro parte del valle del giro. Para la identificación de los sectores se utilizó el microscopio de luz ZEISS Scope.A1, acoplado con una cámara de alta resolución AxioCam HRc, y objetivo a 4X. Para garantizar las condiciones adecuadas en la búsqueda de las VENs y demás procedimientos, se consideró pertinente tomar registro fotográfico de 3 crestas y 3 valles por hemisferio de los 5 sujetos, por lo que al final del proceso se contó con 15 fotografías de crestas y 15 de valles para cada hemisferio, es decir un total de 60 registros.

De acuerdo con la localización de las VENs (Allman et al., 2011; Evrard et al., 2012; Fajardo et al., 2008; Stimpson et al., 2011), así como los lineamientos del trabajo de investigación, se consideró pertinente tomar registro de campos rectangulares restringidos a las láminas infragranulares, pero cuya extensión horizontal fuese mayor a 1000µm. Dadas las características del microscopio y la disposición de los cortes histológicos, no fue necesaria la fusión de sectores parciales. Las fotografías fueron tomadas en el Objetivo de 10X y previamente calibradas con la imagen de un micrómetro de portaobjetos (Stage micrometer objective NIKONR, tipo A, MBM11100, de 1mm con 100 subdivisiones de 10 µm cada una) Ver imagen 1. El establecimiento de la rejilla de referencia para el conteo de las VENs se realizó a partir de las herramientas del programa SigmaScan Pro 5 (SPSS Science 2000®), demarcando un área de 1380µm de extensión horizontal y 300µm en el eje vertical, descendiendo desde los límites entre la capa IV profunda y VI superficial (imagen 2). Estos parámetros fueron seleccionados de acuerdo a estudios previos de nuestro grupo, donde se indicó un estimado de 2400 µm de espesor cortical total para el área 10p en la superficie medial y un grosor aproximado para la lámina V que oscilaba entre 9,3 y 9,4% de la superficie abarcada entre la lámina I y el inicio de la sustancia blanca subcortical (Buriticá, 2007).

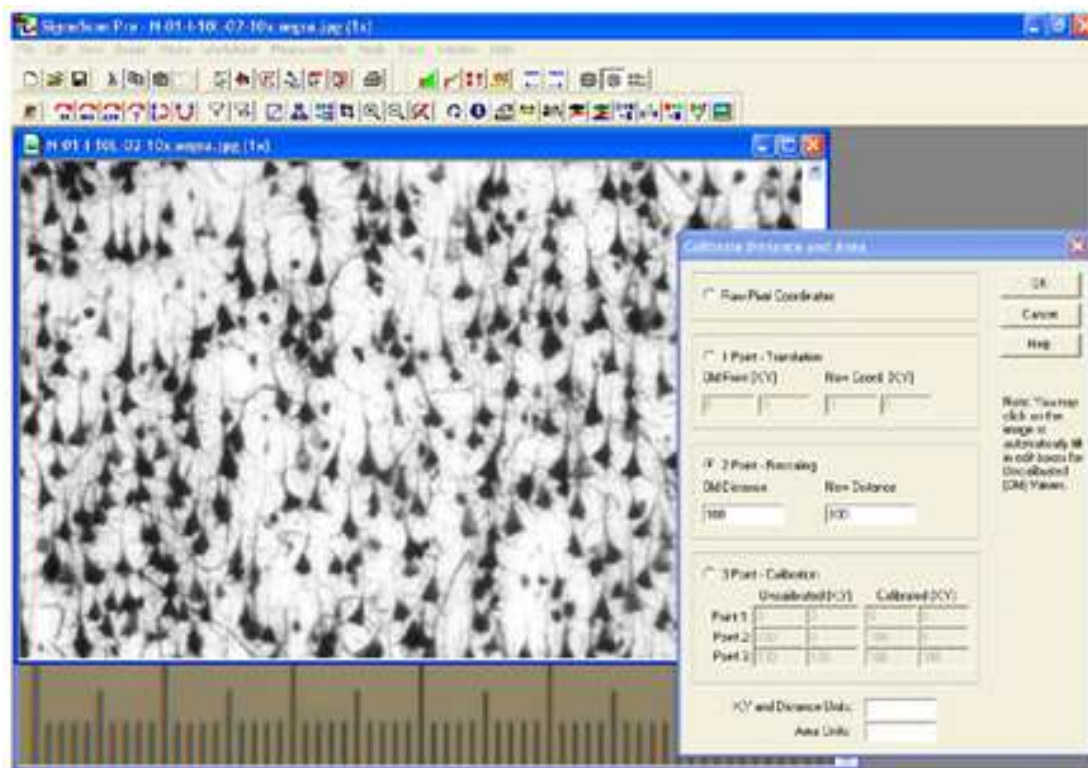


Imagen 1: Calibración de imagen en el programa SigmaScan Pro 5(SPSS Science 2000®)

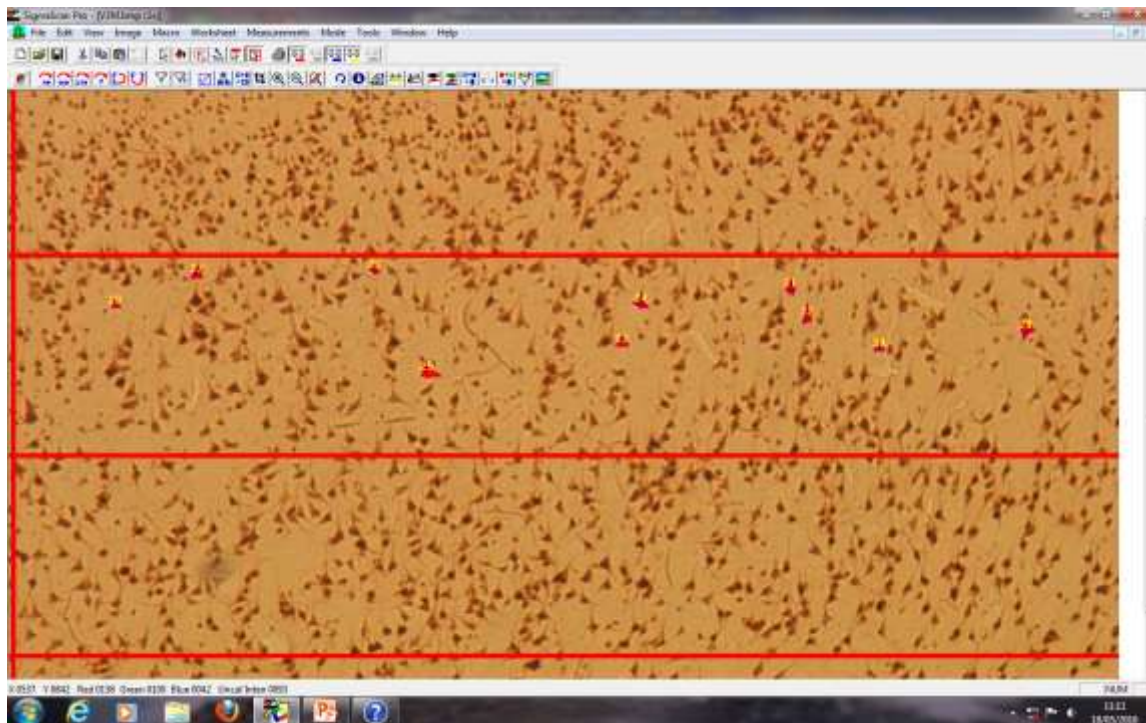


Imagen 2: Rejilla de referencia para el conteo de las VENs con el programa SigmaScan Pro 5 (SPSS Science 2000®). Área 1380µm (eje X) x 300µm (eje Y).

Dentro de esta rejilla de referencia y con el objetivo de establecer cantidades, densidades y diferencias entre valles y crestas (intra e interhemisféricas), se procedió al conteo de las células Piramidales y VENs marcadas con el anticuerpo Anti-NeuN. La selección se basó en los criterios morfológicos preestablecidos (Imagen 3). (K. K. Watson et al., 2006)

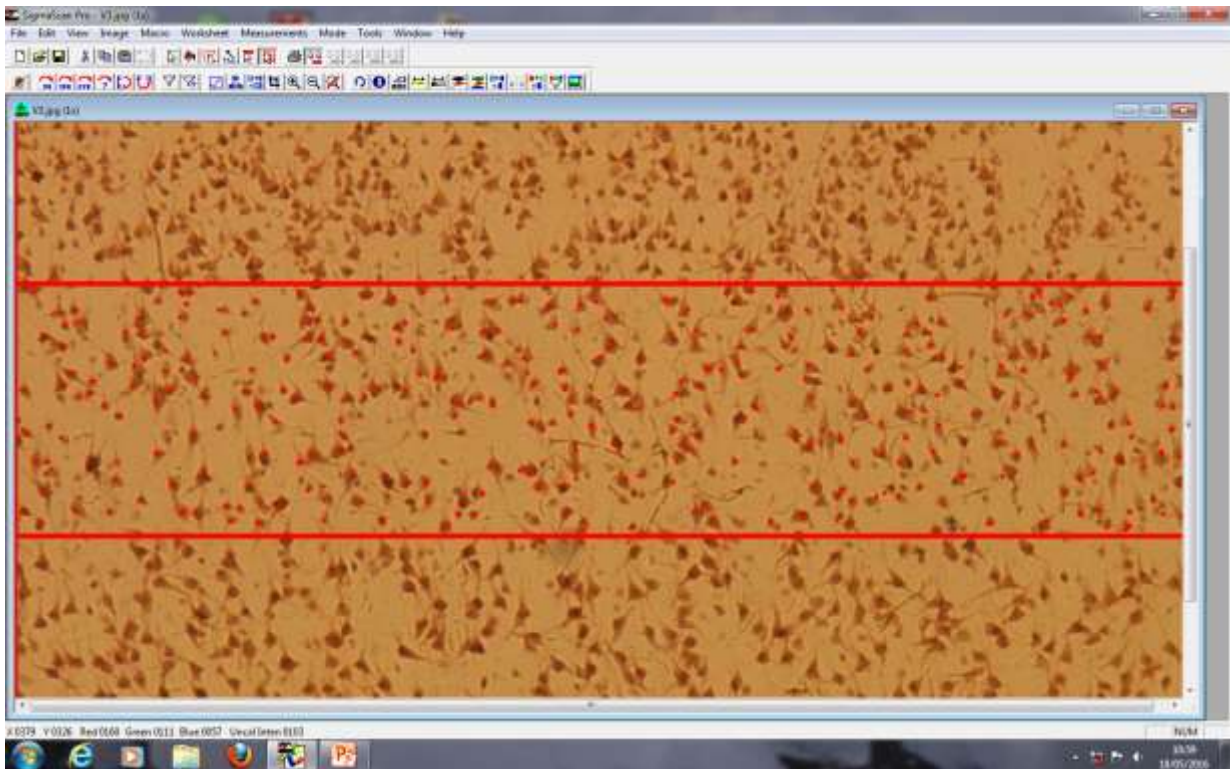


Imagen 3: Conteo de las células Piramidales y VENs con el programa SigmaScan Pro 5 (SPSS Science 2000®)

Para determina el área y analizar posibles diferencias en el tamaño de las neuronas Piramidales versus las VENs (intra e interhemisféricas), se midió el área de 10 Piramidales (tomadas aleatoriamente) y todas las VENs que no presentaran superposición y cuyo soma pudiera observarse completamente (Imagen 4 y 5). La comparación frente a las células fusiformes (10 seleccionadas al azar), se realizó a

partir de la medición obtenida de fotografías de la lámina VI correspondiente a cada uno de los 60 registros (imagen 6).

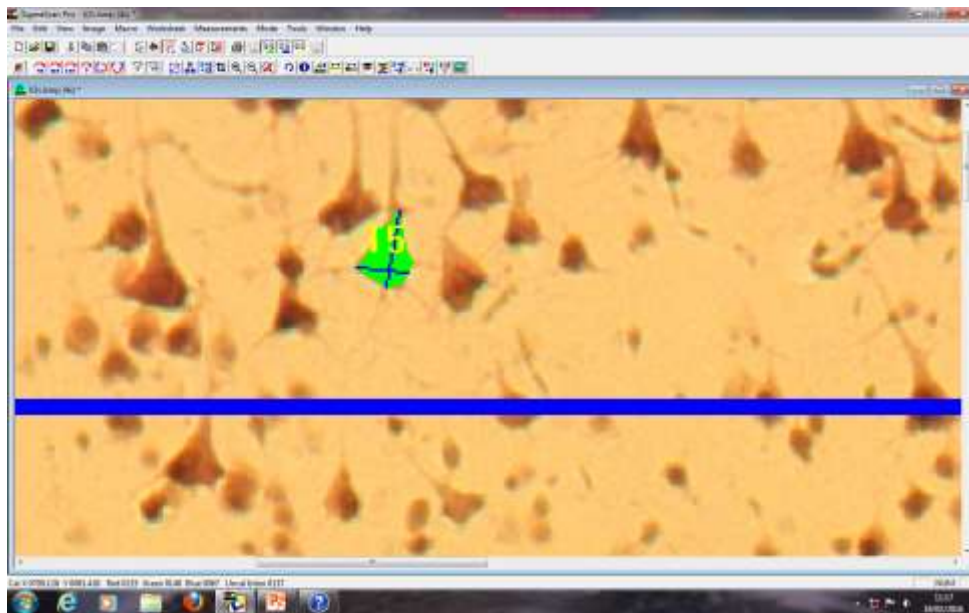


Imagen 4: Medición del área del soma de una neurona Piramidal de la capa Vb con el programa SigmaScan Pro 5 (SPSS Science 2000®)

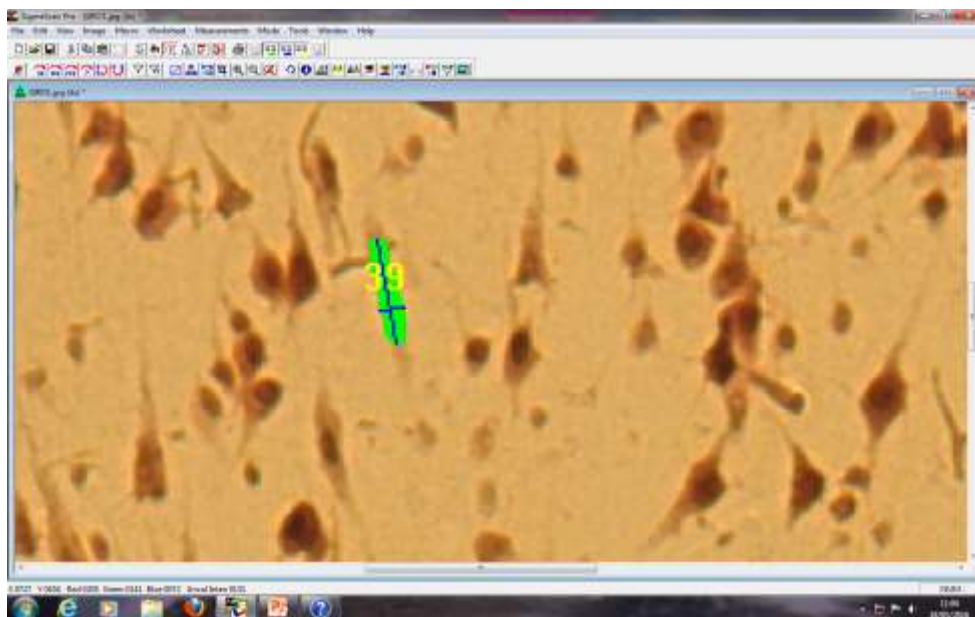


Imagen 5: Medición del área del soma de una neurona de Von Economo con el programa SigmaScan Pro 5 (SPSS Science 2000®)

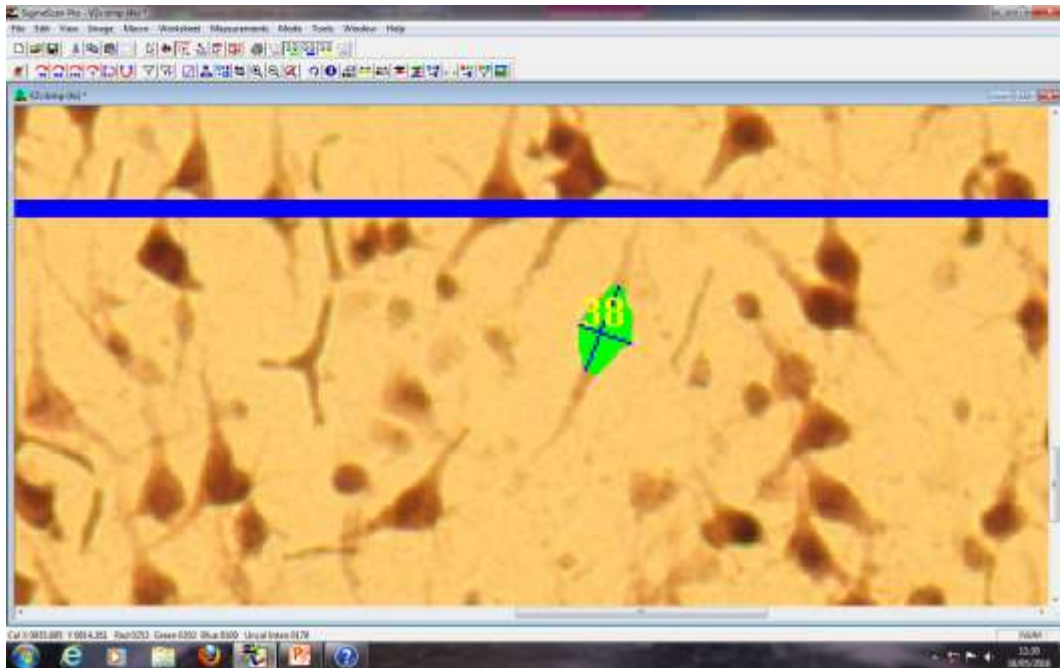


Imagen 6: Medición del área del soma de una neurona Fusiforme de la capa VI con el programa SigmaScan Pro 5 (SPSS Science 2000®)

4.4 PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

En el presente trabajo se realizó un análisis de los datos empleando estadística descriptiva y de forma predominante se indicaran los hallazgos de la investigación en término cuantitativos. Sin embargo, inicialmente se hará una descripción cualitativa de la capa V, haciendo énfasis en las diferencias de la densidad celular para las subcapas Va y Vb. Después de la identificación de las VENs, se referirán sus rasgos morfológicos y las características de la inmunomarcación con el anticuerpo Anti-NeuN (Procesos, soma, núcleo).

Dada la baja densidad de las VENs no se espera una distribución uniforme entre sujetos, por lo que se hará un reporte de los rangos mínimos y máximos en los cuales es posible encontrarlas en el área 10p de la cara medial. Posteriormente y

subsano el problema de la heterogeneidad en la distribución de las VENs, se estimará el promedio del total de muestras analizadas.

Se considerará los rangos y los promedios de las VENs halladas en las crestas y los valles. Esta información será comparada entre cada uno de los hemisferios, estableciendo si hay continuidad de los datos en relación a lo descrito previamente en la bibliografía (Allman et al., 2011). Estos datos serán presentados como cantidad neta y también relativa, es decir en términos porcentuales de la relación VENs/Piramidal.

En tercera instancia se compara el área de las VENs frente a las células Piramidales de la capa Vb y las fusiformes de la lámina VI. Para ello se estimará el promedio, mediana, desviación estándar, varianza de la muestra y rangos de cada tipo neuronal. La información respecto a las VENs será contrastada además entre giros y valles para referir posibles variaciones en el tamaño dentro de estos sectores.

En todos los casos se realizará comprobación de hipótesis para establecer si las diferencias son estadísticamente significativas, y se ilustrarán los hallazgos a partir de cuadros y gráficos, empleando la prueba *t-student* y un nivel de significancia $\alpha < 0.05$.

5. RESULTADOS

5.1 HALLAZGOS GENERALES

La marcación con el anticuerpo Anti-NeuN posibilitó de entrada la caracterización del área 10p en la superficie medial de la corteza cerebral humana, así como la identificación de la sub-laminación descrita previamente para la capa V (Perlaza, Buritica, Umbarila, Arteaga, & Pimienta, 2005). De tal forma se observó y discriminaron las láminas Va y Vb, esta última de particular interés dado que los hallazgos previos de las VENs en humanos se han restringido a dicho sector (Allman et al., 2005; Butti et al., 2009; Fajardo et al., 2008; Nimchinsky et al., 1999; Von Economo C, 1925; Watson et al., 2006). De acuerdo con lo observado, la subcapa Va presentó un número mayor de células, predominantemente con morfología Piramidal y en su límite superior colindaban con la profundidad de la IV, esta de menor espesor y con la presencia preponderante de interneuronas que confieren un aspecto granuloso. La densidad en la sublámina Vb disminuye y en ella se evidencian Piramidales de mediano y gran tamaño. El límite inferior de esta subcapa se continúa con la VI, la cual, en general, ostentó un aumento de la densidad neuronal, la presencia de Piramidales modificadas y células fusiformes medianas y pequeñas. Esta determinación de la citoarquitectura del área 10p en su cara medial y, específicamente de la sublámina Vb, sirvió como marco de referencia espacial para la búsqueda de las VENs de acuerdo con los criterios preestablecidos (imagen 7).

Teniendo en cuenta lo anterior, al realizar la búsqueda en las muestras procesadas con el anticuerpo Anti-NeuN en el área 10 medial, sublámina Vb, en 5 sujetos humanos, se evidenció la presencia de las neuronas Von Economo. Las VENs, fueron observadas en todos los sujetos, ya sea en las crestas (Imagen 8), valles (imagen 9) o en crestas y valles en algunas de las muestras. Es importante

considerar que si bien en cada uno de los sujetos las VENs estuvieron presentes, no en todos los cortes o sectores observados se hallaron dichas células. La morfología corresponde a la descrita previamente, caracterizada por un soma elongado y un proceso basal y apical que se extiende casi de forma simétrica al cuerpo de la célula. La marcación del anticuerpo Anti-NeuN en el soma de la neurona fue de baja intensidad, contrario a lo observado en su núcleo, claramente distinguible (Imagen 10).

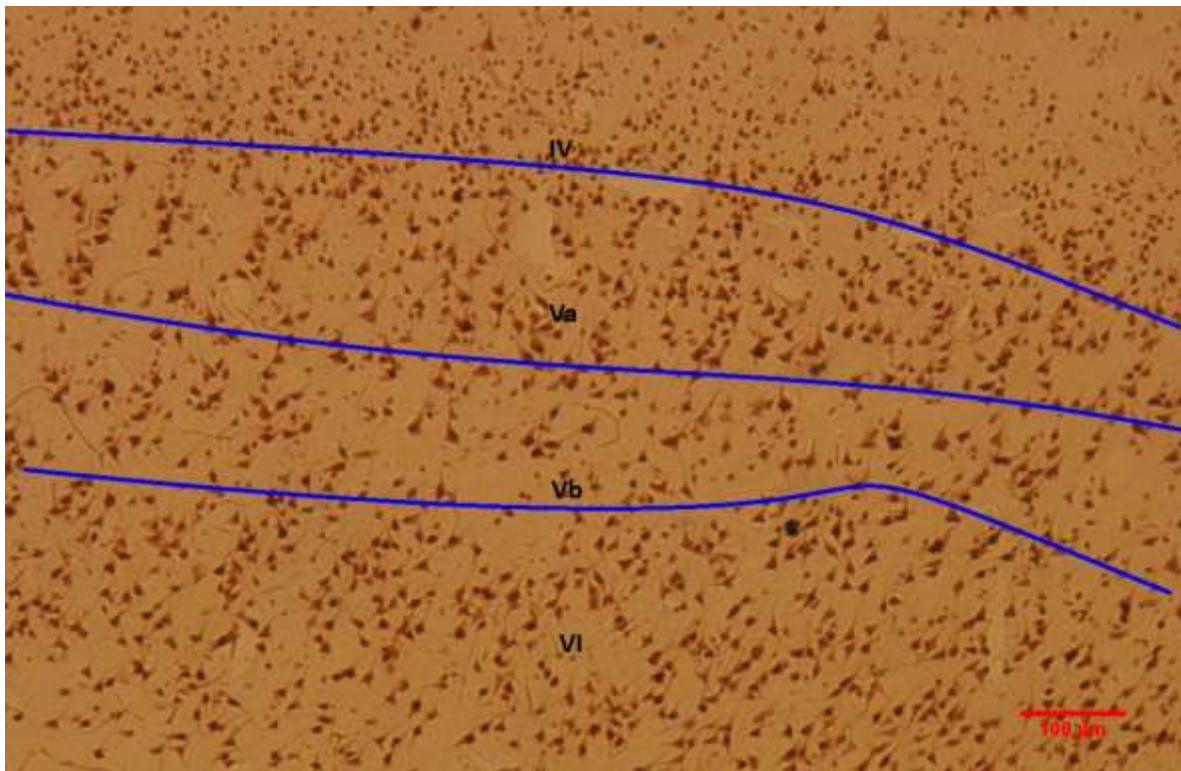


Imagen 7: Fotografía donde se evidencia la caracterización citoarquitectónica del área 10p en la superficie medial. Se muestra el aspecto granular de la lámina IV y la disminución en la densidad neuronal de la Vb en relación a la Va y VI

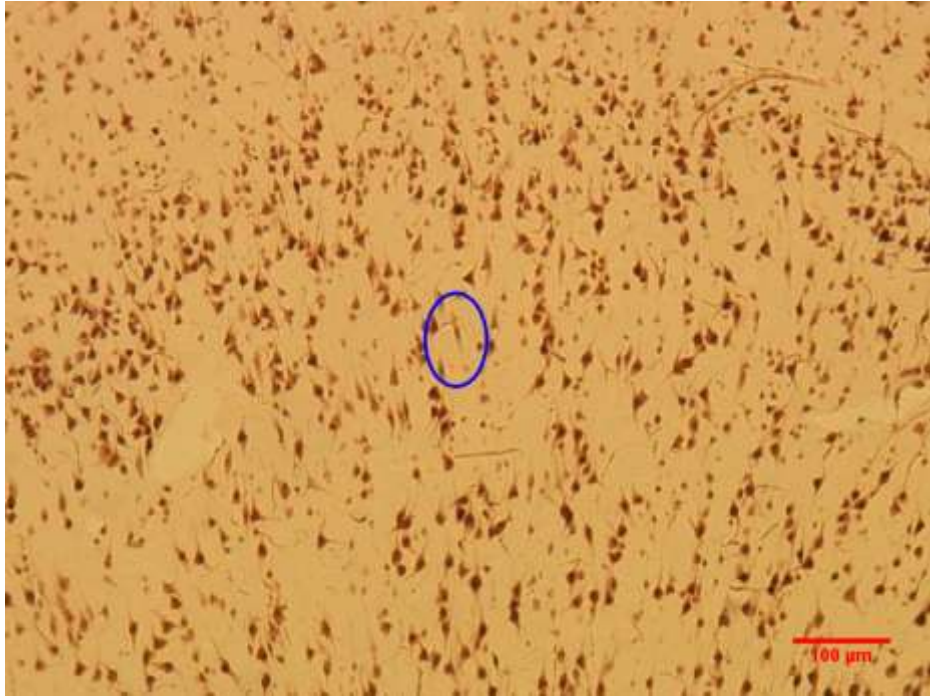


Imagen 8: Fotografía donde se muestra una VENs localizada en la subcapa Vb sobre la cresta del Giro

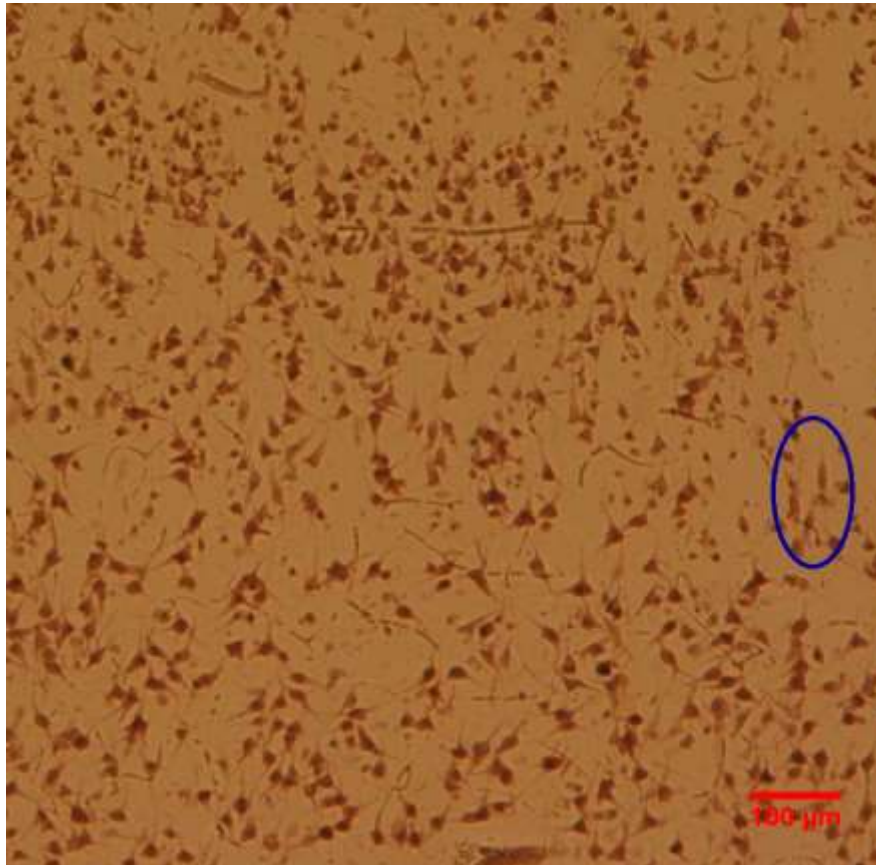


Imagen 9: fotografía donde se observa una VENs en el valle del Giro

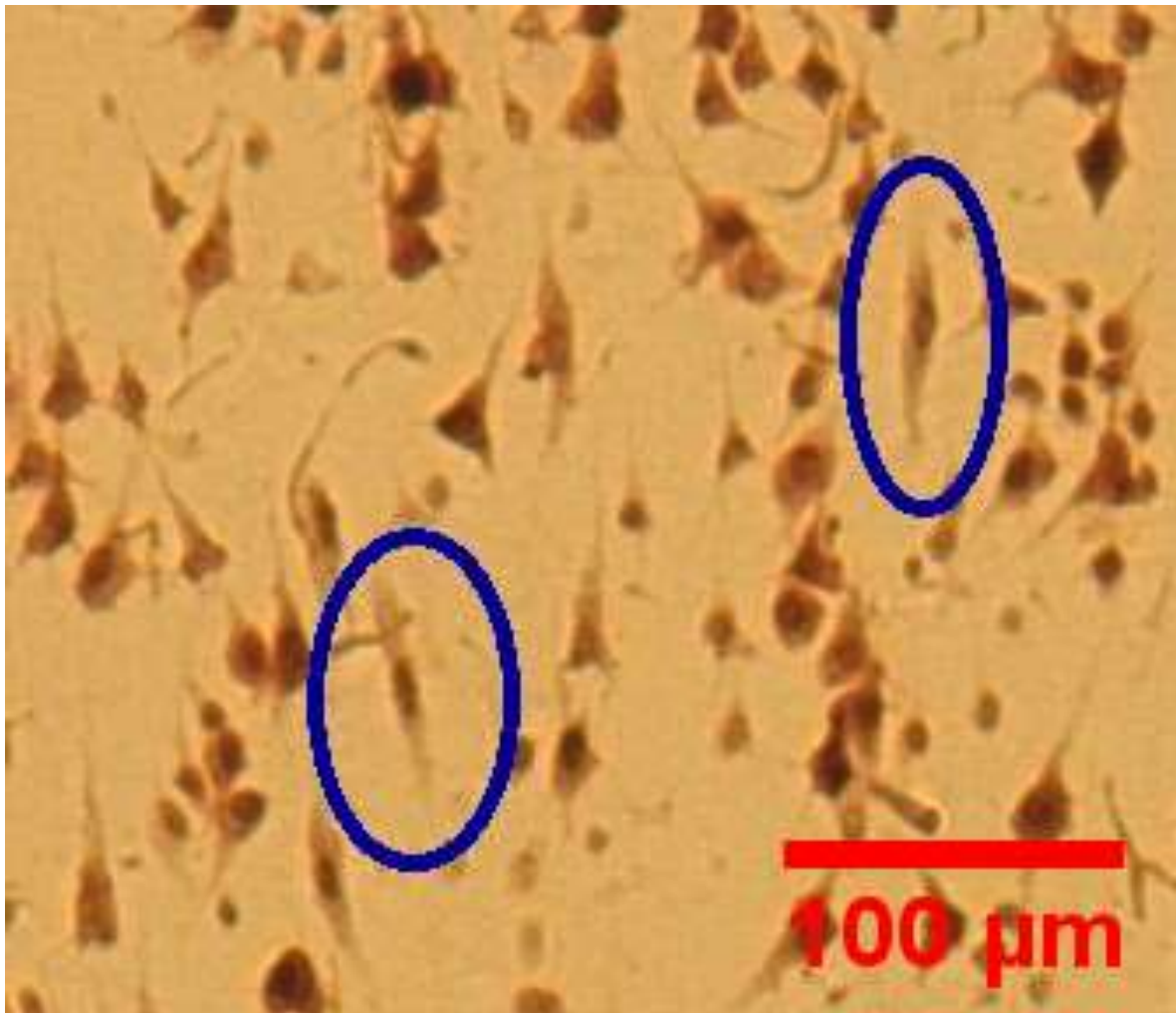


Imagen 10: Fotografía donde se muestra las características de la marcación del anticuerpo Anti-NeuN. Note la baja intensidad en el soma y el realce de la tinción en el núcleo, claramente distinguible.

5.2 NÚMERO Y DENSIDAD GLOBAL: DATOS CUANTITATIVOS

En total se hallaron 92 células morfológicas de VENs. Según los datos muestrales el número de VENs se encuentran en un rango que oscila entre 0, en aquellos sectores que no fue posible evidenciarlas, y 21 en la que se evidenció la mayor cantidad de estas neuronas. El rango máximo correspondió al conteo de la cresta 1, del hemisferio derecho, del sujeto 1. En promedio se calculó 1.61 células en las muestras donde se describió la presencia de las VENs.

Dentro de los datos procesados, el rango de la proporción VENs/Piramidal está entre 0% y 0.08%. El rango máximo correspondió al conteo de la cresta 1, del hemisferio derecho, del sujeto 1, en el cual se halló una relación VENs/Piramidal de 21:255. La inferencia indicó que las proporciones en los sujetos a estudio variaban entre 0% y 0.021%, con un intervalo de confianza del 95% (Tabla 3 y 4).

<i>Estadística Descriptiva Muestral</i>	
Promedio	1,61
Mediana	1
Rango Mínimo	0
Rango Máximo	21
N° de VENs	92

Tabla 3: Estadística descriptiva para el número de VENs halladas en la totalidad de las muestras

<i>Estadística Descriptiva de las Proporciones</i>	
Promedio global	1.61
Rango mínimo de la proporción	0%
Rango máximo de la proporción	0,08%
Variación proporción al IC<95>	0 – 0,021
N° de VENs	92

Tabla 4: Descriptiva del rango de las proporciones e inferencia para la variación de la proporción al IC <95>. Fórmula utilizada para explicar el rango de variación

$$IC_{<95\%>} = \hat{p} \pm Z_{\frac{\alpha}{2}} * \sqrt{\frac{\hat{p}(1 - \hat{p})}{n}}$$

5.3. COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD Y DENSIDAD ENTRE CRESTAS Y VALLES: DATOS CUANTITATIVOS

Al comparar la distribución de las VENs entre crestas y valles se observó un total de 66 neuronas en las crestas y 26 en los valles. El rango mínimo fue de cero en los dos casos y el máximo fue de 21 y 6 células, respectivamente. La proporción fluctuó entre 0% y 0,08% en las crestas y 0% y 0,02% en los valles. El rango más alto para las crestas se encontró en la cresta 1, del hemisferio derecho, del sujeto 1. Para los valles correspondió al valle 3, hemisferio derecho, del sujeto 1. El promedio global fue de 2.4% y 0.9% en este mismo orden, lo que en términos generales indica mayor cantidad y densidad de las VENs en las crestas que en los valles. La diferencia entre crestas y valles fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Las proporciones estimadas fueron de 0.007% y 0.002%, consecutivamente (Tabla 5).

<i>Descriptiva</i>	<i>Crestas</i>	<i>Valles</i>
Promedio	2.4	0.9
Mínimo	0	0
Máximo	21	6
Rango mínimo de la proporción	0	0
Rango máximo de la proporción	0,08	0,02
Proporción estimada	0,007	0,002
Nº de células VENs	66	26

Tabla 5: Comparación del número, rango, rango proporcional y promedio de las VENs entre crestas y valles. También se indica la proporción estimada.

Prueba de hipótesis: $H_0: P_{GIROS} = P_{VALLES}$ Vs. $H_A: P_{GIROS} < P_{VALLES}$ (se asume la normalidad de los datos) Nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Estadístico de prueba:

$$Z = \frac{(\hat{p}_1 - \hat{p}_2) - d}{\sqrt{\frac{\hat{p}_1(1-\hat{p}_1)}{n_1} + \frac{\hat{p}_2(1-\hat{p}_2)}{n_2}}}$$

5.4. ASIMETRÍA INTERHEMISFÉRICA

Al comparar la cantidad de las VENs entre hemisferios se encontró un total de 81 células para el hemisferio derecho y 11 para el izquierdo. La proporción VENs/Piramidal para estos datos corresponde al 0,008% y 0,001%, respectivamente. La asimetría fue significativa en términos estadísticos ($p < 0,05$).

La comparación interhemisférica para las crestas indica un número de 58 VENs en el hemisferio derecho y 8 en el izquierdo, correspondiendo respectivamente al 0,012% y 0,02% de la población celular total de las neuronas donde se encontró este tipo celular. Referente a los valles, la sumatoria de las VENs fue de 23 para el hemisferio derecho y 3 para el izquierdo, lo cual atañe a una proporción del 0,004% y 0,001%, respectivamente (Tabla 6).

<i>Muestra</i>	<i>Hemisferio</i>	<i>Suma piramidales</i>	<i>Suma VENs</i>	<i>Proporción</i>
Total	D	10787	81	0.008
	I	10323	11	0.001
Valle	D	5808	23	0.004
	I	5910	3	0.001
Cresta	D	4979	58	0.012
	I	4413	8	0.002

Tabla 6: Diferencias interhemisféricas entre el número y proporción de las VENs, expresada en términos globales, así como crestas y valles de cada giro.

5.5. DATOS GLOBALES SOBRE EL TAMAÑO NEURONAL

En la tabla 7 se resume la estadística descriptiva sobre el tamaño del soma de cada una de las células en estudio. Se observa que las VENs presentan en promedio un área mayor, comparado tanto con las Piramidales de la sublámina Vb, como con las

fusiformes de la capa VI. Las VENs tienen un valor medio de $369.9\mu\text{m}^2$ ($\pm 75.4\mu\text{m}^2$) versus $257.1\mu\text{m}^2$ ($\pm 79.5\mu\text{m}^2$) para las Piramidales y $196\mu\text{m}^2$ ($\pm 48.6\mu\text{m}^2$) para las fusiformes. De igual modo se encontró que el rango de variación de las VENs fue más estrecho (rango máximo $577\mu\text{m}^2$ - rango mínimo $222\mu\text{m}^2$), en comparación con el de las neuronas Piramidales (rango máximo $500\mu\text{m}^2$ - rango mínimo $54\mu\text{m}^2$) y fusiformes (rango máximo $265\mu\text{m}^2$ - rango mínimo $78\mu\text{m}^2$). La diferencia planteada entre las VENs y los otros tipos celulares es estadísticamente significativa ($p < 0.05$). En promedio, las VENs fueron 1,43 veces más grandes que las Piramidales de la lámina Vb y 1.88 que las fusiformes de la capa VI.

<i>Descriptivas</i>	<i>VENs</i>	<i>Piramidales</i>	<i>Fusiformes</i>
Promedio	369.8	257.1	196
Mediana	363.2	252.5	194
Desviación estándar	75.4	79.5	48.6
Varianza de la muestra	5690.1	6319.7	2359.2
Rango	355	500	265
Mínimo	222	54	78
Máximo	577	554	343

Tabla 7: Estadística descriptiva de los datos globales sobre el área de las VENs y Piramidales de la sublámina Vb, así como de las células fusiformes de la capa VI.

5.6. COMPARACIÓN DEL TAMAÑO DE LAS VENs ENTRE CRESTAS Y VALLES

Según la cuantificación de los datos, las VENs alcanzaron un tamaño del soma promedio en las crestas de $348.4\mu\text{m}^2$ ($\pm 63\mu\text{m}^2$) y en los valles de $417.1\mu\text{m}^2$ ($\pm 93.5\mu\text{m}^2$). La mediana fue $343.7\mu\text{m}^2$ y $423\mu\text{m}^2$, respectivamente. El rango mínimo fue de $238\mu\text{m}^2$ y el máximo de $542\mu\text{m}^2$ en el caso de las crestas. Para los valles el rango osciló entre $222\mu\text{m}^2$ y $577\mu\text{m}^2$. Las células Piramidales presentaron un tamaño promedio de $257.2\mu\text{m}^2$ ($\pm 78.9\mu\text{m}^2$) en las crestas y $257\mu\text{m}^2$ ($\pm 80.2\mu\text{m}^2$) en los valles. En cuanto a las células fusiformes, su tamaño correspondió a

189.3 μm^2 (+/- 43.2 μm^2) y 205.5 μm^2 (+/- 54.2 μm^2), respectivamente. Comparando el área del soma de las VENs de acuerdo con su localización dentro del giro (cresta o valle), el análisis estadístico mostró que las VENs en los valles presentan tamaños más diversos pero en general, mayores a los de los valles ($p<0.05$) (figura 10). Las neuronas Piramidales de la subcapa Vb y las fusiformes de la lámina VI ostentan una divergencia intrínseca casi nula: el tamaño promedio para las Piramidales en las crestas fue de 257.2 μm^2 versus 257.1 μm^2 en los valles; para las fusiformes se calculó un tamaño de 189.3 μm^2 y 205.4 μm^2 respectivamente (Tabla 8 – figura 10).

<i>Descriptivas</i>	VENs		Piramidales		Fusiformes	
	<i>Crestas</i>	<i>Valles</i>	<i>Crestas</i>	<i>Valles</i>	<i>Crestas</i>	<i>Valles</i>
Media	348.4	417.1	257.2	257.1	189.3	205.4
Mediana	343.7	423	247	256.5	181	208
Desviación estándar	63	93.5	78.9	80.2	43.2	54.2
Varianza de la muestra	3970	8733.4	6224.9	6426.1	1865.8	2937.6
Rango Mínimo	238	222	92	54	78	87
Rango Máximo	542	577	514	554	283	343
Frecuencia	48	21	270	300	103	73

Tabla 8: Se muestra la estadística descriptiva para el área dada en μm^2 en crestas y valles para las VENs, Piramidales de la subcapa Vb y fusiformes de la VI.

5.7. COMPARACIÓN DEL TAMAÑO NEURONAL ENTRE HEMISFERIOS

En la tabla 9 se muestra los datos comparativos entre hemisferios. El promedio para el área de las VENs en el hemisferio derecho fue de 369,99 μm^2 (+/- 78.9 μm^2) y de 365,64 μm^2 (+/- 86.8 μm^2) en el izquierdo. En cuanto a las Piramidales el valor medio para el derecho fue de 248,9 μm^2 (+/- 73.1 μm^2) y de 266,2 μm^2 (+/- 85.2 μm^2) para el izquierdo. En las fusiformes estos valores correspondieron a 198,1 μm^2 (+/- 49.8) y 185,7 μm^2 (+/- 41.0) respectivamente.

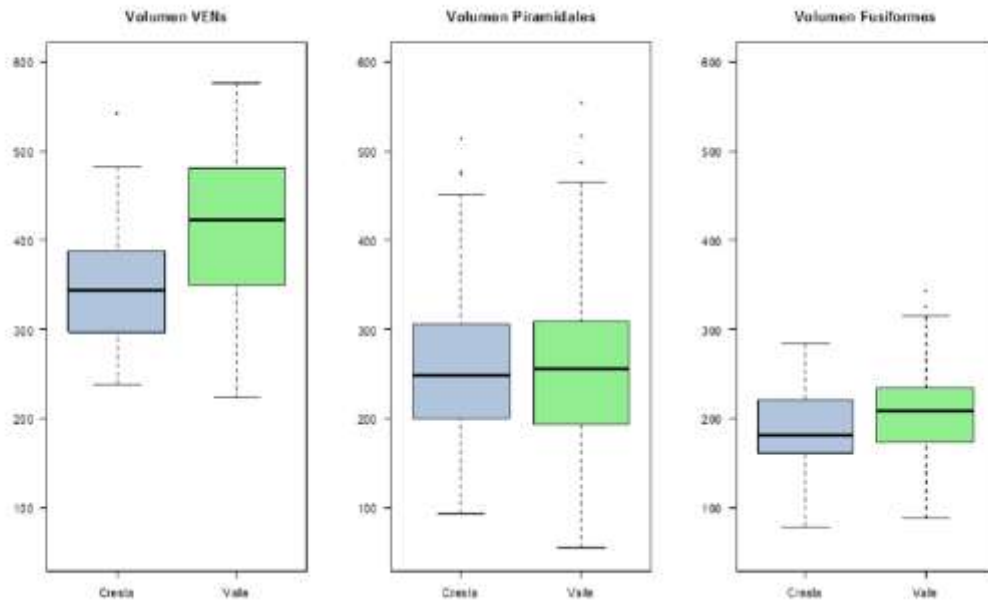


Figura 10: se muestra la comparación del área entre las VENs, las Piramidales de la capa Vb y las Fusiformes de la VI. Observe que las VENs presentan un área dada en μm^2 mayor que las Piramidales y las fusiformes. De igual modo se indica la diferencia intrínseca entre valles y crestas, obsérvese la mayor dispersión del área de las VENs en al contrastar estas dos regiones. Las diferencias intrínsecas en Piramidales y Fusiformes son despreciables.

Prueba de hipótesis para área entre VENs versus piramidales y fusiformes:

$$H_0: \mu_{VENs} \geq \mu_{Piramidales} \quad V.S. \quad H_A: \mu_{VENs} < \mu_{Piramidales}$$

$$H_0: \mu_{VENs} \geq \mu_{Fusiformes} \quad V.S. \quad H_A: \mu_{VENs} < \mu_{Fusiformes}$$

Estadístico (se asume la normalidad de los datos), nivel de significancia de $\alpha = 0.05$:

$$T = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - d}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (**)$$

Donde,

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) \cdot S_1^2 + (n_2 - 1) \cdot S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

No se observaron diferencias importantes en el promedio del área de las VENs entre hemisferios. Por lo tanto, se encontró a un nivel de significancia del 5% que las VENs no presentan variaciones interhemisféricas en su tamaño. La comparación del tamaño del soma entre las células Piramidales y entre las Fusiformes de ambos hemisferios tampoco arrojó diferencias sustanciales (Tabla 9).

	VENs		Piramidales		Fusiformes	
<i>Estadísticas</i>	<i>HD</i>	<i>HI</i>	<i>HD</i>	<i>HI</i>	<i>HD</i>	<i>HI</i>
Media	369,99	365,64	248,9	266,2	198,1	185,7
Mediana	363,16	349	245,0	260,0	198,5	175,7
Desviación estándar	78,9	86,8	73,1	85,2	49,8	41,0
Varianza de la muestra	6226,4	7528,7	5350,4	7263,5	2484,2	1682,4
Rango	339	278	434	462	265	182
Mínimo	238	222	54	92	78	108
Máximo	577	500	488,0	554,0	343,0	290,0
Frecuencia	58	11	300	270	146	30

Tabla 9: Datos comparativos interhemisféricas sobre el área (dada en μm^2) de las VENs, Piramidales de la subcapa Vb y Fusiformes de la lámina VI.

6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

6.1. COMPARACIÓN CON LA UBICACIÓN CORTICAL PREVIAMENTE DOCUMENTADA

En este trabajo fue posible demostrar la presencia de las células de Von Economo en la superficie medial del área 10 de la corteza cerebral humana. Su morfología correspondió a la descrita clásicamente, caracterizada por una elongación cilíndrica de su soma (de mayor tamaño que las células piramidales de la misma lámina y que las células fusiformes de la lámina VI), perpendicular a la sustancia blanca subcortical y con dos polos dendríticos que se extienden casi de forma simétrica al cuerpo neuronal (Hammarberg, 1895; Ramón y Cajal, 1901; Von Economo, 1925; Watson et al., 2006).

Inicialmente, en el hombre, estas neuronas fueron referidas por diferentes autores en la región anterior del Giro Cíngulo y la porción frontal de la Ínsula, localizadas específicamente en la subcapa Vb (Allman et al., 2011; Hammarberg, 1985; Nimchinsky, Vogt, Brent & Morrison, 1995; Nimchinsky et al., 1999; Pauc & Young, 2009). En otras especies las VENs parecen situarse de forma más generalizada, ya sea en múltiples regiones corticales o, incluso, en distintas láminas de un mismo sector. Tales observaciones se han llevado a cabo, por ejemplo, en cetáceos donde se evidenciaron en el lóbulo Temporal, la corteza perisilviana, la región posterior del Cíngulo, entre otros. Las VENs en estos especímenes no solo se ubicaron en la capa V, sino también en la profundidad de la III (Butti et al., 2014).

Otras investigaciones orientadas a demostrar la ubicuidad de las VENs comprobaron en el clado de los cetartiodáctilos, perisodáctilos y afrotheria una relativa omnipresencia de este tipo celular, relatando, además del Cíngulo e ínsula, su existencia en el polo frontal y occipital, salvo ciertas excepciones, dentro de las

que se cuenta el ser humano (Raghanti et al., 2014). Nuestro grupo en 2008 identificó las VENs en el giro Frontal Superior, a medio centímetro en sentido ventral de la convexidad Dorsolateral, delimitada por Brodman como área 9 (Fajardo et al., 2008). En ese mismo estudio, se descartó la presencia de estas neuronas en otras regiones corticales como las áreas 4, 10 lateral, 17, 45 y 46. Este hallazgo resultó novedoso, dado que la circunscripción de las VENs al Cíngulo y a la Ínsula por casi un siglo parecía otorgarle un rotulo paradigmático.

El presente estudio constituye el primer reporte sobre la presencia de las VENs en el polo frontal del humano, en particular, en la superficie medial al igual que para el área 9 y 24. La presunta localización circunscrita de estas células en el hombre en áreas prefrontales de la cara medial de los hemisferios insinúan un rol funcional específico, el cual se ha vinculado hasta hoy, por su restricción en la corteza anterior del Giro Cíngulo y la porción frontal de la Ínsula, con mecanismos como la valoración intuitiva y la toma de decisiones rápida en contextos sociales complejos (Allman et al., 2005); sin embargo, nuevos hallazgos podrían sugerir un papel más divergente. Cabe en esta instancia el interrogante acerca de si la supuesta ausencia de las VENs en ciertos sectores corticales en el humano, tales como el lóbulo occipital, puede obedecer a fallas metodológicas u otros factores aleatorios. Esto justificaría nuevas búsquedas, con resultados que inclinarían la balanza a favor de quienes proponen que las VENs son el producto morfológico de la presión mecánica propia de la expansión y girificación de la corteza cerebral y por qué no, una respuesta morfofuncional a requerimientos indeterminados que pueden variar entre especies o individuos (Raghanti et al., 2014).

6.2 DIFERENCIAS EN DENSIDAD RESPECTO AL GIRO CÍNGULO, ÍNSULA Y ÁREA 9

Las VENs fueron halladas sólo en 31 de las 60 muestras (valles o crestas) examinadas, contabilizando un total de 92 neuronas. En más de la mitad de los

casos (17) solo se evidenció una célula aislada. A pesar de que se calculó el promedio, se consideró pertinente reportar la cantidad total y la densidad neuronal relativa. La proporción máxima de VENs en la corteza frontopolar fue de 0,08% con relación a las Piramidales de la capa Vb. Este dato es bastante inferior a los reportados previamente, que oscilan entre el 0.5% en el área de 9 de Brodman (Fajardo et al., 2008), el 1.19% para la región Frontoinsular (Allman et al., 2011; Raghanti et al., 2014) y el 3% para la corteza anterior del Giro Cíngulo (Fajardo et al., 2008; Nimchinsky et al., 1999; Raghanti et al., 2014). En cetáceos se encontraron porcentajes para la región anterior del giro del Cíngulo y la Ínsula entre 0.01 y 0,06% (Butti et al., 2009), valor que se equipara mucho más a los hallazgos obtenidos en este estudio.

6.3. DISTRIBUCION DIFERENCIAL DE LAS VENs ENTRE CRESTAS Y VALLES, ASÍ COMO ENTRE HEMISFERIOS

Las VENs fueron halladas tanto en las crestas como en los valles de los giros. No obstante, su distribución no fue homogénea, alcanzando en los rangos máximos de la proporción VENs/Piramidal una diferencia de 4 veces a favor de las crestas. En cuanto a la cantidad neta esta fue de 2.5 y el promedio de 2.6 veces mayor que en los valles. Esta desigualdad está en acuerdo con los registros aportados por otras investigaciones, no solo en el ser humano sino en otras especies (Allman et al., 2011; Butti et al., 2009; Hakeem et al., 2009; Nimchinsky et al., 1995; Raghanti et al., 2014).

Respecto a la asimetría interhemisférica los datos indicaron una discrepancia importante en favor del hemisferio derecho. Los hallazgos son evidentes, con una diferencia de 7.3 veces en la cantidad neta y de 8 veces en el rango máximo de la proporción VENs/Piramidal. Esto fue constante tanto en valles como en crestas, dato del cual no se conoce reporte previo y que fue expuesto aquí como parte de los resultados. En primates no es la primera vez que se muestra tal aspecto, de

hecho Allman y colaboradores refirieron como en humanos y grandes simios esta asimetría se hacía significativa postnatalmente. Este mismo grupo hace manifiesto que la desigualdad es mayor en la porción anterior de la ínsula que en la corteza anterior del Giro Cíngulo (Allman et al., 2011). Similares datos arrojó un estudio en la región Frontoinsular, mostrando un incremento del número y densidad para el hemisferio derecho (Evrard et al., 2012).

6.4. ANÁLISIS DEL TAMAÑO

El tamaño del soma de las VENs fue mayor que el de las células Piramidales (1,43 veces más grandes) de la misma lámina y que el de las células fusiformes de la capa VI (1.88 veces más grandes). Estos datos son coincidentes con investigaciones previas realizadas tanto en el humano como en otros grandes simios, aunque estas últimos fueron obtenidos con análisis volumétricos (Nimchinsky et al., 1999). A pesar que la unidad de medida es diferente (área versus volumen), no es despreciable la continuidad en los hallazgos.

Se considera que, en el ser humano, se reportó una diferencia de 4,6 veces en la relación volumétrica VENs/Piramidal (Nimchinsky et al., 1999). Este dato difiere significativamente de las 1,43 veces estimadas en este trabajo. Nuestro grupo (Fajardo et al., 2008), encontró que la superficie del cuerpo de las VENs de BA9 ($627.5 \pm 96,92 \mu\text{m}^2$) son mayores que las de BA24 ($536 \pm 161.5 \mu\text{m}^2$). Las VENs del área 10p medial ostentan una dimensión inferior respecto de estas otras 2 áreas corticales, por lo que es posible indicar que de todos los análisis previos realizados en el hombre, se reportan aquí las VENs de menor tamaño y cuya discrepancia respecto a las Piramidales de la capa Vb y fusiformes de la VI es menos distante.

6.5 DIFERENCIA DEL TAMAÑO ENTRE CRESTAS Y VALLES

Un dato que resulta llamativo, es que las VENs tienen un soma de mayor tamaño en los valles que en las crestas de los giros ($417.1\mu\text{m}^2$ versus $384.4\mu\text{m}^2$). Inicialmente se pensó que este fenómeno pudiera responder a que en los valles se presentara una menor densidad celular. Sin embargo, al corroborar dicha información, paradójicamente, en las muestras procesadas se halló que la cantidad de las Piramidales para los valles es más alta (11.718 versus 9.392). Se requiere otro tipo de análisis y nuevos estudios que permitan establecer la continuidad de este dato. No obstante, no es despreciable el hallazgo, ya que próximas investigaciones pueden confirmarlo y tal vez instaurar un significado citoarquitectónico y, por qué no, hodológico y funcional para el mismo.

6.6. IMPLICACIONES FUNCIONALES

En cuanto a los aspectos funcionales, dada la ubicación de las VENs en la corteza anterior del Giro cíngulo y la porción rostral de la Ínsula, así como por sus características morfológicas (un soma de gran tamaños que puede sustentar un axón que inerva regiones distales y la escasa arborización dendrítica), se han vinculado con la valoración intuitiva y las reacciones rápidas en contextos sociales complejos (Allman et al., 2005; Baron-Cohen et al., 1999; Butti et al., 2013; Cauda et al., 2013; Critchley, Mathias, Dolan, et al., 2001; Singer, 2004; Shin et al., 2000). El área 10 se ha relacionado con múltiples funciones entre las que contamos diferentes tipos de memoria, razonamiento, memoria operativa, teoría de la mente, metacognición, entre otras (Burgess, Simons, Dumontheil, & Gilbert, 2004; Burgess, Gilbert, & Dumontheil, 2007; Fletcher & Henson, 2001; Gusnard, 2001). Se ha postulado una diferenciación funcional entre el área 10 medial y lateral. Esta última presenta una mayor activación cuando se enfrenta a tareas que requieren el direccionamiento de la atención a partir de estímulos internos. Por el contrario, la

cara medial responde preponderantemente cuando el pensamiento está orientado por los externos (Koechlin, Corrado, Pietrini, & Grafman, 2000).

Las VENs en la región polar del área 10 medial se circunscriben de forma específica a lámina Vb. Esta subcapa se ha caracterizado clásicamente por sus eferencias a estructuras subcorticales. De hecho, se conocen conexiones con el Hipotálamo y la Sustancia Gris Periacueductal (Ongür & Price, 2000; Rempel-Clower & Barbas, 1998). Desde este panorama, se podría sugerir que las VENs juegan un rol en el desencadenamiento de las respuestas autonómicas que se dan frente a cambios repentinos elicitados por estímulos externos, posiblemente de índole social.

Siguiendo a Barbas y Rempel (Barbas & Rempel, 1997), en la corteza Prefrontal, concretamente en las regiones de definición laminar moderada (como el área 10p medial), las neuronas infragranulares proyectaría a capas supragranulares de un sector de más alto rango jerárquico (como las áreas Dorsolaterales). En este contexto, no sería descabellado pensar que las VENs del área 10 medial participen también en procesos asociativos de orden superior, tal como la teoría de la mente o la metacognición. Vale la pena mencionar que los datos sobre el perfil bioquímico, no descartan que la expresión heterogénea de factores de transcripción por parte de las VENs pueda estar asociada a destinos axonales mas divergentes de los establecidos inicialmente, tal como fibras comisurales (Cobos & Seeley, 2013).

En conclusión, en este trabajo se demostró la presencia de las neuronas de Von Economo en la sublámina Vb, de la región polar del área 10 medial en la corteza prefrontal humana. Su densidad y tamaño fue mucho menor a la descrita en estudios previos en el hombre. A pesar de esto, el tamaño fue mayor al de las células Piramidales de la subcapa Vb y al de las fusiformes pequeñas de la VI, rasgo característico de estas neuronas. Referente a las asimetrías, hubo mayor cantidad

y proporción en el hemisferio derecho. Este dato también fue observado al comparar valles y crestas, evidenciándose un mayor número en estas últimas. Un hallazgo también novedoso indica que el tamaño del soma de las VENs es mayor en los valles que en las crestas de los giros.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcamo, E. A., Chirivella, L., Dautzenberg, M., Dobрева, G., Farin, I., Grosschedl, R. & McConnell, S. K. (2008). Article Satb2 Regulates Callosal Projection Neuron Identity in the Developing. *Cerebral Cortex*, 4, 364–377. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.12.012>
- Allman, J. M., Tetreault, N. A., Hakeem, A. Y., Manaye, K. F., Semendeferi, K., Erwin, J. M. y Hof, P. R. (2011). The von Economo neurons in the frontoinsular and anterior cingulate cortex. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1225 (1), 59–71. <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06011.x>
- Allman, J. M., Watson, K. K., Tetreault, N. A. & Hakeem, A. Y. (2005). Intuition and autism: a possible role for Von Economo neurons. *Trends in Cognitive Sciences*, 9 (8), 367–73. <http://doi.org/10.1016/j.tics.2005.06.008>
- Bachevalier, J., Meunier, M., Lu, M.X. & Ungerleider, L. G. (1997). Thalamic and temporal cortex input to medial prefrontal cortex in rhesus monkey. *Experimental Brain Research*, 115, 430–444.
- Bailey, A., Luthert, P., Dean, A., Harding, B., Janota, I., Montgomery, M. y Lantos, P. (1998). A clinicopathological study of autism. *Brain*, 121(5), 889–905. <http://doi.org/10.1093/brain/121.5.889>
- Barbas, H. & Pandya, D. (1989). Architecture intrinsic connections of the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 286, 353–375.
- Barbas, H. (1997). Cortical Structure Predicts the Pattern of Corticocortical Connections, 635–646.
- Barnea-Goraly, N., Kwon, H., Menon, V., Eliez, S., Lotspeich, L. & Reiss, A. L. (2004). White matter structure in autism: Preliminary evidence from diffusion tensor imaging. *Biological Psychiatry*, 55(3), 323–326. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2003.10.022>
- Baron-Cohen, S., Baron-Cohen, S., Ring, H. A., Ring, H. A., Wheelright, S., Wheelright, S. y Williams, S. C. (1999). Social intelligence in the normal and autistic brain: an fMRI study. *European Journal of Neuroscience*, 11(6), 1891–1898.
- Berthoz, S., Armony, J. L., Blair, R. J. R. & Dolan, R. J. (2002). An fMRI study of intentional and unintentional (embarrassing) violations of social norms. *Brain*, 125 (8) 1696–1708.
- Betz, W. (1981). No Title Ueber die feinere Structur der Gehirnrinde des Menschen. *Centralbl. Med. Wiss*, 193 (195), 209–234.
- Bloodgood, B. L. & Sabatini, B. L. Ca²⁺ signaling in dendritic spines. <http://doi.org/10.1016/j.conb.2007.04.003>

- Brown, W. S. & Paul, L. K. (2000). Cognitive and psychosocial deficits in agenesis of the corpus callosum with normal intelligence. *Cognitive Neuropsychiatry*, 5(2), 135 – 157.
- Brüne, M., Schöbel, A., Karau, R., Benali, A., Faustmann, P. M., Juckel, G. & Petrasch-Parwez, E. (2010). Von Economo neuron density in the anterior cingulate cortex is reduced in early onset schizophrenia. *Acta Neuropathologica*, 119(6), 771–778. <http://doi.org/10.1007/s00401-010-0673-2>
- Brüne, M., Schöbel, A., Karau, R., Faustmann, P. M., Dermietzel, R., Juckel, G. & Petrasch-Parwez, E. (2011). Neuroanatomical correlates of suicide in psychosis: the possible role of von Economo neurons. *PloS One*, 6(6), e20936. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0020936>
- Burgess, P., Simons, J., Dumontheil, I. & Gilbert, S. (2004). The gateway hypothesis of rostral PFC function. *Trends in cognitive sciences*, 11(7), 290-298. Retrieved from <http://discovery.ucl.ac.uk/181799/>
- Burgess, P. W., Gilbert, S. J. & Dumontheil, I. (2007). Function and localization within rostral prefrontal cortex (area 10). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 362(1481), 887–99. <http://doi.org/10.1098/rstb.2007.2095>
- Buriticá-Ramírez, E. (2007). Organización Neuronal De Las Regiones Lateral Y Medial Del Area 10p De La Corteza Prefrontal Del Humano. *PhD Proposal*. Retrieved from <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Buriticá-Ramírez, E. & Pimienta-Jiménez, H. J. (2007). Corteza Frontopolar Humana : Area 10. *Revista Latinoamericana de Psicología*, 39 (1) 127–142.
- Butti, C., Ewan fordyce, R., Ann Raghanti, M., Gu, X., Bonar, C. J., Wicinski, B. a. y Hof, P. R. (2014). The Cerebral Cortex of the Pygmy Hippopotamus, *Hexaprotodon liberiensis* (Cetartiodactyla, Hippopotamidae): MRI, Cytoarchitecture, and Neuronal Morphology. *Anatomical Record*, 297(4), 670–700. <http://doi.org/10.1002/ar.22875>
- Butti, C., Santos, M., Uppal, N. & Hof, P. R. (2013). Von Economo neurons: clinical and evolutionary perspectives. *Cortex; a Journal Devoted to the Study of the Nervous System and Behavior*, 49(1), 312–26. <http://doi.org/10.1016/j.cortex.2011.10.004>
- Butti, C., Sherwood, C. C., Hakeem, A. Y., Allman, J. M. & Hof, P. R. (2009). Total number and volume of Von Economo neurons in the cerebral cortex of cetaceans. *The Journal of Comparative Neurology*, 515(2), 243–59. <http://doi.org/10.1002/cne.22055>
- Economo, C. V. (1926). Eine neue Art Spezialzellen des Lobus cinguli und Lobus insulae. *Z Ges Neurol Psychiat.* 100(1), 706-712.
- Callicott, J. H., Straub, R. E., Pezawas, L., Egan, M. F., Mattay, V. S., Hariri, A. R. y Weinberger, D. R. (2005). Variation in DISC1 affects hippocampal structure and function and increases risk for schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(24), 8627-8632.

- Cauda, F., Geminiani, G. C. & Vercelli, A. (2014). Evolutionary appearance of von Economo's neurons in the mammalian cerebral cortex. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8(March), 104.
- Cavada, C., Compañy, T., Tejedor, J., Cruz-Rizzolo, R.J. & Reinoso-Suárez, F. (2000). The anatomical connections of the macaque monkey orbitofrontal cortex: A review. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 10, 220–242.
- Cellular structure of the human cerebral cortex. (2009). *European Journal of Neurology: The Official Journal of the European Federation of Neurological Societies*, 16(10), e174.
- Chen, B. P., Wolfgang, C. D., & Hai, T. (1996). Analysis of ATF3, a transcription factor induced by physiological stresses and modulated by gadd153/Chop10. *Molecular and cellular biology*, 16(3), 1157-1168.
- Chen, B., Wang, S. S., Hattox, A. M., Rayburn, H., Nelson, S. B. & McConnell, S. K. (2008). The Fezf2 – Ctip2 genetic pathway regulates the fate choice of subcortical projection neurons in the developing cerebral cortex, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(32), 11382-11387.
- Chubb, J. E., Bradshaw, N. J., Soares, D. C., Porteous, D. J. & Millar, J. K. (2008). The DISC locus in psychiatric illness, *Molecular psychiatry*, 13(1), 36-64.
- Cobos, I. & Seeley, W. W. (2013). Human von Economo Neurons Express Transcription Factors Associated with Layer V Subcerebral Projection Neurons. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)* *Cerebral Cortex*, 25(1), 213-220
- Covert, H. H. (2012). A Pictorial Guide to Living Primates and Much More. *Evolutionary Anthropology: (2)*, 84–85. <http://doi.org/10.1002/evan.21301>
- Cox, B. (1977). Vertebrate evolution. *Nature*, 268(5622), 774–774. <http://doi.org/10.1038/268774a0>
- Craig AD. (2009). How do you feel--now? The anterior insula and human awareness. *Nat Rev Neurosci*. 10(1), 59-70
- Crespi, B., Summers, K. & Dorus, S. (2007). Adaptive evolution of genes underlying schizophrenia, (September), *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 274(1627), 2801-2810.
- Critchley, H. D., Mathias, C. J. & Dolan, R. J. (2001). Neural activity in the human brain relating to uncertainty and arousal during anticipation. *Neuron*, 29(2), 537–545. [http://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00225-2](http://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00225-2)
- Critchley, H. D., Mathias, C. J., Dolan, R. J., Singer, T., Dolan, R. J., Frith, C. D. y Woodruff, P. W. R. (2001). Behavioural and functional anatomical correlates of deception in humans. *Neuron*, 12(13), 43–50. [http://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00225-2](http://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00225-2)
- Devinsky, O. & Laff, R. (2003). Callosal lesions and behavior: History and modern concepts. *Epilepsy and Behavior*, 4(6), 607–617. <http://doi.org/10.1016/j.yebeh.2003.08.029>
- Duan, X., Chang, J. H., Ge, S., Faulkner, R. L., Kim, J. Y., Kitabatake, Y. & Ganesan, S. (2007). Disrupted-In-Schizophrenia 1 Regulates Integration of Newly

- Generated Neurons in the Adult Brain, *Cell*, 130(6), 1146-1158.
- Eisenberger, N. I., Lieberman, M. D., & Williams, K. D. (2003). Does rejection hurt? An fMRI study of social exclusion. *Science*, 302(5643), 290-292
- Erickson, S.L. & Lewis, D. A. (2004). Cortical connections of the lateral mediodorsal thalamus in Cynomolgus monkeys. *The Journal of Comparative Neurology*, 473, 107–127.
- Van Essen, D. C. (1997). A tension-based theory of morphogenesis and compact wiring in the central nervous system. *NATURE-LONDON*-, 313-318.
- Evrard, H. C., Forro, T. & Logothetis, N. K. (2012). Von Economo Neurons in the Anterior Insula of the Macaque Monkey. *Neuron*, 74(3), 482–489. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.03.003>
- Fajardo, C., Escobar, M. I., Buriticá, E., Arteaga, G., Umbarila, J., Casanova, M. F. & Pimienta, H. (2008). Von Economo neurons are present in the dorsolateral (dysgranular) prefrontal cortex of humans. *Neuroscience Letters*, 435(3), 215–218. <http://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.02.048>
- Ferry, A.T., Öngür, D., An, X. & Price, J. L. (2000). Prefrontal cortical projections to the striatum in macaque monkey: Evidence for an organization related to prefrontal networks. *The Journal of Comparative Neurology*, 425, 447–470.
- Fletcher, P. C. & Henson, R. N. (2001). Frontal lobes and human memory: insights from functional neuroimaging. *Brain : A Journal of Neurology*, 124(5), 849–881. <http://doi.org/10.1093/brain/124.5.849>
- Gallay, D. S., Gallay, M. N., Jeanmonod, D., Rouiller, E. M., Morel, A. & Zu, C.-. (2012). The Insula of Reil Revisited: Multiarchitectonic Organization in Macaque Monkeys, (January), *Cerebral Cortex*, 22(1), 175-190
- Ghashghaei, H. T. & Barbas, H. (2002). Pathways for Emotion: Interactions of Prefrontal and Anterior Temporal Pathways in the Amygdala of the Rhesus Monkey, 115(4), 1261–1279.
- Gilbert, P., McEwan, K., Irons, C., Bhundia, R., Christie, R., Broomhead, C. & Rockliff, H. (2010). Self-harm in a mixed clinical population: the roles of self-criticism, shame, and social rank. *The British Journal of Clinical Psychology / the British Psychological Society*, 49(4), 563–576. <http://doi.org/10.1348/014466509X479771>
- Gittins, R. & Harrison, P. J. (2004). Neuronal density, size and shape in the human anterior cingulate cortex: A comparison of Nissl and NeuN staining. *Brain Research Bulletin*, 63(2), 155–160. <http://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2004.02.005>
- Gündel, H., López-Sala, A., Ceballos-Baumann, A. O., Deus, J., Cardoner, N., Marten-Mittag, B. y Pujol, J. (2004). Alexithymia correlates with the size of the right anterior cingulate. *Psychosomatic Medicine*, 66(1), 132–140. <http://doi.org/10.1097/01.PSY.0000097348.45087.96>
- Gusnard, D. A., Akbudak, E., Shulman, G. L., & Raichle, M. E. (2001). Medial prefrontal cortex and self-referential mental activity: relation to a default mode

- of brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(7), 4259-4264.
- Hakeem, A. Y., Sherwood, C. C., Bonar, C. J., Butti, C., Hof, P. R. & Allman, J. M. (2009). Von Economo neurons in the elephant brain. *Anatomical Record*, 292(2), 242–248. <http://doi.org/10.1002/ar.20829>
- Hammarberg, C. Studien ube spindle r die normale Anatomie des Hirnrinde. *Uppsala*; Hammarberg, C. (1895). Studie nüber Klinik und Pathologie der Idiotie nebst Unter- suchungen über die normale Anatomie des Hirnrinde. *Uppsala: Nova Acta Regiae Societatis Scientiarum Upsalensis*.
- Hashimoto, R., Numakawa, T., Ohnishi, T., Kumamaru, E., Izumi, A., Chiba, S. y Ozaki, N. (2006). Impact of the DISC1 Ser704Cys polymorphism on risk for major depression , brain morphology and ERK signaling, 15(20), 3024–3033. <http://doi.org/10.1093/hmg/ddl244>
- Hayashi, M., Ito, M. & Shimizu, K. (2001). The spindle neurons are present in the cingulate cortex of chimpanzee fetus. *Neuroscience Letters*, 309(2), 97–100. [http://doi.org/10.1016/S0304-3940\(01\)02039-0](http://doi.org/10.1016/S0304-3940(01)02039-0)
- Herman, L. M., Richards, D. G. & Wolz, J. P. (1984). Comprehension of sentences by bottlenosed dolphins. *Cognition*, 16(2), 129–219. [http://doi.org/10.1016/0010-0277\(84\)90003-9](http://doi.org/10.1016/0010-0277(84)90003-9)
- Hof, P. R., Glezer, I. I., Condé, F., Flagg, R. a., Rubin, M. B., Nimchinsky, E. A. & Vogt Weisenhorn, D. M. (1999). Cellular distribution of the calcium-binding proteins parvalbumin, calbindin, and calretinin in the neocortex of mammals: Phylogenetic and developmental patterns. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 16(2), 77–116. [http://doi.org/10.1016/S0891-0618\(98\)00065-9](http://doi.org/10.1016/S0891-0618(98)00065-9)
- Hof, P. R. & Sherwood, C. C. (2005). Morphomolecular neuronal phenotypes in the neocortex reflect phylogenetic relationships among certain mammalian orders. *The Anatomical Record*, 287(1), 1153–63. <http://doi.org/10.1002/ar.a.20252>
- Hof, P. R. & Van Der Gucht, E. (2007). Structure of the cerebral cortex of the humpback whale, *Megaptera novaeangliae* (Cetacea, Mysticeti, Balaenopteridae). *Anatomical Record*, 290(1), 1–31. <http://doi.org/10.1002/ar.20407>
- Ibegbu, A. O., Umana, U. E., Hamman, W. O., & Adamu, A. S. (2014). Von Economo neurons: A Review of the Anatomy and Functions. *Austin J Anat*, 1(5), 1026.
- Imagery, G. S., Shin, L. M., Dougherty, D. D., Orr, S. P., Pitman, R. K., Lasko, M. y Rauch, S. L. (2000). Activation of Anterior Paralimbic Structures during. *Biological psychiatry*, 48(1), 43-50
- Jensen, R. T., Battey, J. F., Spindel, E. R. & Benya, R. V. (2008). International Union of Pharmacology . LXVIII . Mammalian Bombesin Receptors : Nomenclature , Distribution , Pharmacology , Signaling , and Functions in Normal and Disease States, 60(1), 1–42. <http://doi.org/10.1124/pr.107.07108.1>
- Joseph L. y Price. (2007). Definition of the Orbital Cortex in Relation to Specific Connections with Limbic and Visceral Structures and Other Cortical Regions.

Annals of the New York Academy of Sciences, 1121(1), 54-71

- Kaada, B. R., Pribram, K. H., & Epstein, J. A. (1949). Respiratory and vascular responses in monkeys from temporal pole, insula, orbital surface and cingulate gyrus. *Journal of neurophysiology*.
- Kaas, H. (1995). Principles of organization of sensory perceptual systems in mammals. *Progress in Psychobiology and Physiological Psychology*, 9, 1 – 41.
- Kaufman, J. a, Paul, L. K., Manaye, K. F., Granstedt, A. E., Hof, P. R., Hakeem, A. Y. & Allman, J. M. (2008). Selective reduction of Von Economo neuron number in agenesis of the corpus callosum. *Acta Neuropathologica*, 116(5), 479–89. <http://doi.org/10.1007/s00401-008-0434-7>
- Kim, E.-J., Sidhu, M., Gaus, S. E., Huang, E. J., Hof, P. R., Miller, B. L. y Seeley, W. W. (2012). Selective frontoinsular von Economo neuron and fork cell loss in early behavioral variant frontotemporal dementia. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 22(2), 251–9. <http://doi.org/10.1093/cercor/bhr004>
- Kingdom, U. & Zellphysiologie, A. (2001). Propagation of Action Potentials in Dendrites Depends on Dendritic Morphology. *Journal of neurophysiology*, 85(2), 926-937.
- Kemper, T. L., & Bauman, M. L. (1993). The contribution of neuropathologic studies to the understanding of autism. *Neurologic clinics*.
- Koechlin, E., Corrado, G., Pietrini, P. & Grafman, J. (2000). Dissociating the role of the medial and lateral anterior prefrontal cortex in human planning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(13), 7651–6. <http://doi.org/10.1073/pnas.130177397>
- Kondo, H., Saleem, K.S. & Price, J. L. (2003). Differential connections of the temporal pole with the orbital and medial prefrontal networks in macaque monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 465, 499–523.
- Krubitzer, L. & Kaas, J. (2005). The evolution of the neocortex in mammals: How is phenotypic diversity generated? *Current Opinion in Neurobiology*, 15(4), 444–453. <http://doi.org/10.1016/j.conb.2005.07.003>
- Krutzen, M., Mann, J., Heithaus, M. R., Connor, R. C., Bejder, L. & Sherwin, W. B. (2005). Cultural transmission of tool use in bottlenose dolphins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(25), 8939–8943.
- Latre, A., Mauborgne, A., Masson, J., Bourgoin, S., Hamon, M. & Pohl, M. (2008). Differential Implication of Proinflammatory Cytokine Interleukin-6 in the Development of Cephalic versus Extracerebral Neuropathic Pain in Rats, 28(34), 8489–8501. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2552-08.2008>
- Longe, O., Maratos, F. A., Gilbert, P., Evans, G., Volker, F., Rockliff, H. & Rippon, G. (2010). Having a word with yourself: Neural correlates of self-criticism and self-reassurance. *NeuroImage*, 49(2), 1849–1856. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.09.019>
- Lusseau, D. (2007). Evidence for social role in a dolphin social network. *Evolutionary Ecology*, 21(3), 357–366. <http://doi.org/10.1007/s10682-006-9105-0>

- Lysaker, P. H., Roe, D. & Yanos, P. T. (2007). Toward understanding the insight paradox: Internalized stigma moderates the association between insight and social functioning, hope, and self-esteem among people with schizophrenia spectrum disorders. *Schizophrenia Bulletin*, 33(1), 192–199. <http://doi.org/10.1093/schbul/sbl016>
- Mann, J. (1999). Behavioral sampling methods for cetaceans: A review and critique. *Marine Mammal Science*, 15(1), 102–122. <http://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1999.tb00784.x>
- Morecraft, R.J. & Van Hoesen, G. W. (1993). Frontal granular cortex input to the cingulate (M3), supplementary (M2) and primary (M1) motor cortices in the rhesus monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 337, 669–689.
- Nawa, H., Takahashi, M. & Patterson, P. H. (2000). Cytokine and growth factor involvement in schizophrenia — support for the developmental model, *Molecular psychiatry*, 5(6).
- Nawa, H. & Takei, N. (2006). Recent progress in animal modeling of immune inflammatory processes in schizophrenia : Implication of specific cytokines, 56, 2–13. <http://doi.org/10.1016/j.neures.2006.06.002>
- Nieuwenhuys, R. (2012). *The insular cortex : A review. Evolution of the Primate Brain* (1st ed., Vol. 195). Elsevier B.V. *Progress in brain research*, 195, 123-163.
- Nimchinsky, E A.; Vogt, Brent A. y Morrison, J. H. H. P. R. (1995). Spindle Neurons of the Human Anterior Cingulate Cortex. *The Journal of Comparative Neurology*. 355(1), 27-37
- Nimchinsky, E. A, Gilissen, E., Allman, J. M., Perl, D. P., Erwin, J. M. & Hof, P. R. (1999). A neuronal morphologic type unique to humans and great apes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(9), 5268–5273. <http://doi.org/10.1073/pnas.96.9.5268>
- Öngür, D., Ferry, A. T., & Price, J. L. (2003). Architectonic subdivision of the human orbital and medial prefrontal cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 460(3), 425-449.
- Ongür, D. & Price, J. L. (2000). The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 10(3), 206–219. <http://doi.org/10.1093/cercor/10.3.206>
- Ozeki, Y., Tomoda, T., Kleiderlein, J., Kamiya, A., Bord, L., Fujii, K. y Sawa, A. (2003). truncation prevents binding to NudE-like (NUDEL) and inhibits neurite outgrowth, 100(1), 289–294.
- Palmer, B. A., Pankratz, V. S. & Bostwick, J. M. (2005). The lifetime risk of suicide in schizophrenia: a reexamination. *Archives of General Psychiatry*, 62(3), 62(3), 247–253.
- Parker, J. D. A., Keightley, M. L., Smith, C. T. & Taylor, G. J. (1999). Interhemispheric transfer deficit in alexithymia: An experimental study. *Psychosomatic Medicine*, 61(4), 464–468. Retrieved from <http://www.psychosomaticmedicine.org/content/61/4/464>

- Pauc, R. & Young, A. (2009). The history of von Economo neurons (VENs) and their possible role in neurodevelopmental/neuropsychiatric disorders: A literature review. *Clinical Chiropractic*, 12(3), 101–108. <http://doi.org/10.1016/j.clch.2009.09.004>
- Paul, L. K., Brown, W. S., Adolphs, R., Tyszka, J. M., Richards, L. J., Mukherjee, P. & Sherr, E. H. (2007). Agenesis of the corpus callosum: genetic, developmental and functional aspects of connectivity. *Nature Reviews. Neuroscience*, 8(4), 287–299. <http://doi.org/10.1038/nrn2107>
- Perlaza, Buritica, Umbarila, Arteaga, & Pimienta. (2005). Corteza Prefrontal Humana: Areas 10m, 11o y 46d citoarquitectura e implicaciones funcionales, 37. *Revista Salud UIS*, 37(1).
- Petrides, M. & Pandya, D. N. (1999). Dorsolateral prefrontal cortex: Comparative cytoarchitectonic analysis in the human and the macaque brain and corticocortical connection patterns. *European Journal of Neuroscience*, 16, 291–310.
- Plotnik, J. M., de Waal, F. B. M. & Reiss, D. (2006). Self-recognition in an Asian elephant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(45), 17053–17057. <http://doi.org/10.1073/pnas.0608062103>
- Raghanti, M. A., Spurlock, L. B., Robert Treichler, F., Weigel, S. E., Stimmelmayer, R., Butti, C. y Hof, P. R. (2014). An analysis of von Economo neurons in the cerebral cortex of cetaceans, artiodactyls, and perissodactyls. *Brain Structure and Function*. 220(4), 2303-2314
- Rainville, P., Duncan, G. H., Price, D. D. & Bushnell, M. C. (1997). Pain Affect Encoded in Human Anterior Cingulate But Not Somatosensory Cortex, *Science*, 277(5328), 968-971.
- Rajkowska G, G.-R. P. (1995). Cytoarchitectonic definition of prefrontal areas in the normal human cortex: II. Variability in locations of areas 9 and 46 and relationship to the Talairach Coordinate System. *Cereb Cortex*. 5(4), 323-337.
- Ramón y Cajal, S. (1901). Studies on the human cerebral cortex IV: Structure of the olfactory cerebral cortex of man and mammals. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid*.
- Ramón, S., & Cajal, S. (1904). *Textura del Sistema Nervioso del Hombre y de los Vertebrados* (Vol. 2). Nicolas Moya: Madrid.
- Ramsahoye, B. H. (n.d.). Nearest-Neighbor Analysis.
- Reiss, D. & Marino, L. (2001). Mirror self-recognition in the bottlenose dolphin: a case of cognitive convergence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(10), 5937–5942. <http://doi.org/10.1073/pnas.101086398>
- Rempel-Clower, N.L. & Barbas, H. (1998). Topographic organization of connections between the hypothalamus and prefrontal cortex in the rhesus monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 398, 393–419.

- Rempel-Clower, N. L. & Barbas, H. (1998). Topographic organization of connections between the hypothalamus and prefrontal cortex in the rhesus monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 398(3), 393–419. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19980831\)398:3<393::AID-CNE7>3.0.CO;2-V](http://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19980831)398:3<393::AID-CNE7>3.0.CO;2-V)
- Rosenkranz, M. A. & Davidson, R. J. (2010). Affective neural circuitry and mind-body influences in asthma, 47(3), 972–980. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.05.042>. Affective
- Rauch, S. L., Jenike, M. A., Alpert, N. M., Baer, L., Breiter, H. C., Savage, C. R., & Fischman, A. J. (1994). Regional cerebral blood flow measured during symptom provocation in obsessive-compulsive disorder using oxygen 15—labeled carbon dioxide and positron emission tomography. *Archives of General Psychiatry*, 51(1), 62-70.
- Santillo, A. F., Nilsson, C. & Englund, E. (2013). von Economo neurones are selectively targeted in frontotemporal dementia. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 39(5), 572–9. <http://doi.org/10.1111/nan.12021>
- Santillo, A. F. & Englund, E. (2014). Greater loss of von Economo neurons than loss of layer II and III neurons in behavioral variant frontotemporal dementia, 3(2), 64–71.
- Santos, M., Uppal, N., Butti, C., Wicinski, B., Schmeidler, J., Giannakopoulos, P. y Hof, P. R. (2011). Von Economo neurons in autism: A stereologic study of the frontoinsula cortex in children. *Brain Research*, 1380, 206-217. <http://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.08.067>
- Schwartz, R. C. & Smith, S. D. (2004). Suicidality and psychosis: the predictive potential of symptomatology and insight into illness. *Journal of Psychiatric Research*, 38(2), 185–191.
- Seeley, W.W., Carlin, D.A., Allman, J.M., Macedo, M.N. B. C. & Miller, B.L.D.S. (2006). Early frontotemporal dementia targets neurons unique to apes and humans. *Ann Neurol*, 60, 660–7, 660–7
- Sherwood, C.C, Lee, P.W, Rivara, C.B, Holloway, R.L, Gilissen, P.E.S., Hakeem, A, Allman, J.M. y Erwin, J.M, H. P. (2003). Evolution of specialized pyramidal neurons in primate visual and motor cortex. *Brain Behav Evol.* 61(1), 28-44
- Sherwood, C. C., Wahl, E., Erwin, J. M., Hof, P. R. & Hopkins, W. D. (2009). Histological Asymmetries of Primary Motor Cortex Predict Handedness in Chimpanzees (Pan troglodytes). *World*, 503(4), 525–537. <http://doi.org/10.1002/cne.21399>. Histological
- Shin, L. M., Dougherty, D. D., Orr, S. P., Pitman, R. K., Lasko, M., MacKlin, M. L. y Rauch, S. L. (2000). Activation of anterior paralimbic structures during guilt-related script-driven imagery. *Biological Psychiatry*, 48(1), 43–50. [http://doi.org/10.1016/S0006-3223\(00\)00251-1](http://doi.org/10.1016/S0006-3223(00)00251-1)
- Singer, T. E. A. (2004). Brain reponses to the acquired moral status of faces. *Neuron*, 41, 653–662.

- Spence, S. A., Hunter, M. D., Farrow, T. F., Green, R. D., Leung, D. H., Hughes, C. J., & Ganesan, V. (2004). A cognitive neurobiological account of deception: evidence from functional neuroimaging. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 359(1451), 1755-1762.
- Soderstrom, H. (2003). Psychopathy as a disorder of empathy. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 12, 249–252.
- Srinivasan, K., Leone, D. P., Bateson, R. K., Dobрева, G. & Kohwi, Y. (2012). A network of genetic repression and derepression specifies projection fates in the developing neocortex, 109(47). <http://doi.org/10.1073/pnas.1216793109>
- Stimpson, C. D., Tetreault, N. a., Allman, J. M., Jacobs, B., Butti, C., Hof, P. R. & Sherwood, C. C. (2011). Biochemical specificity of von Economo neurons in hominoids. *American Journal of Human Biology*, 23(1), 22–28. <http://doi.org/10.1002/ajhb.21135>
- Szebenyi, G., Bollati, F., Bisbal, M., Sheridan, S., Faas, L., Wray, R. y Street, S. W. (2005). Activity-Driven Dendritic Remodeling Requires Microtubule-Associated Protein 1A, 15, 1820–1826. <http://doi.org/10.1016/j.cub.2005.08.069>
- Singer, T., Seymour, B., O'Doherty, J., Kaube, H., Dolan, R. J., & Frith, C. D. (2004). Empathy for pain involves the affective but not sensory components of pain. *Science*, 303(5661), 1157-1162.
- TenHouten, W. D., Hoppe, K. D., Bogen, J. E. & Walter, D. O. (1986). Alexithymia: An experimental study of cerebral commissurotomy patients and normal control subjects. *American Journal of Psychiatry*, 143(3), 312–316. <http://doi.org/10.1176/ajp.143.3.312>
- Triarhou, L. C. (2013). Microstructural Parcellation of the Human Cerebral Cortex, Chapter 2 , 33–54. <http://doi.org/10.1007/978-3-642-37824-9>
- Uylings, H. B. M., Jacobsen, A. M., Zilles, K. & Amunts, K. (1999). Left-Right Asymmetry in Volume and Number of Neurons in Adult Broca ' S Area. *Cortex*, 42(4), 652-658.
- Von, Economo C, K. G. (1925). Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde des erwachsenen Menschen. *Springer*.
- W., B. (1881). Ueber die feiners Structur der Gehirnrinde des Menschen. *Zentralbl Med Wiss*.
- Walker, A. (1940). A cytoarchitectural study of the prefrontal area of the macaque monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 73, 59–86.
- Watson, K. K., Jones, T. K. & Allman, J. M. (2006). Dendritic architecture of the von Economo neurons. *Neuroscience*, 141(3), 1107–1112. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.04.084>
- Watson, K. K., Matthews, B. J. & Allman, J. M. (2007). Brain Activation during Sight Gags and Language-Dependent Humor, *Cerebral Cortex*, 17(2), 314-324
- Weinberg, R. J. (1997). Are Topographic Maps Fundamental to Sensory Processing ?, 44(2), 113–116.

Wenzel, S. E., Balzar, S., Ampleford, E., Hawkins, G. A., Busse, W. W., Calhoun, W. J. y Bleecker, E. R.. IL4R γ Mutations Are Associated with Asthma Exacerbations and Mast Cell / IgE Expression. Recueprado en <http://doi.org/10.1164/rccm.200607-909OC>