



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"ESTUDIO MORFOMETRICO COMPARATIVO
EN LAS CELULAS DEL LOCUS
COERULEUS EN RATAS DESNUTRIDAS
CRONICAMENTE"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
JORGE EVARISTO PINEDA GUTIERREZ

Asesora de Tesis: Dra. Sofía Y. Díaz Miranda

México, D. F.

Agosto, 1988



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES HISTORICOS.....	2
LOCALIZACION.....	4
ESTRUCTURA.....	5
CONEXIONES AFERENTES AL LC.....	10
CONEXIONES EFERENTES DEL LC.....	10
DESNUTRICION.....	12
OBJETIVOS	16
HIPOTESIS	16
MATERIAL Y METODOS	17
RESULTADOS	23
CELULAS MULTIPOLARES.....	23
CELULAS FUSIFORMES.....	24
CELULAS OVOIDES.....	26
DISCUSION	28
CONCLUSIONES	35
REFERENCIAS	36

I

RESUMEN

Estudios anatómicos previos han mostrado que la desnutrición es uno de los factores extrínsecos que altera algunas de las etapas del desarrollo cerebral posnatal en las especies altriciales (el hombre y la rata), en particular de la densidad sináptica representada por el número de dendritas y de espinas en las distintas poblaciones celulares del SNC.

Se sabe que en el tallo cerebral la división celular termina antes de los 15 días posparto sin embargo, el desarrollo de los neurotransmisores específicos varía en las distintas áreas cerebrales y en forma concomitante con los cambios anatómicos y funcionales dentro del SNC. En los animales que han sido desnutridos pre y posnatalmente con dietas hipoproteínicas con un contenido de 6% de caseína, hasta el estado adulto, se han encontrado elevadas las aminas biogénicas, y dado que el núcleo locus coeruleus, es el principal productor de noradrenalina, el objetivo del presente trabajo consistió en estudiar los cambios anatómicos que ocurren en las dendritas y espinas de los distintos tipos que constituyen al NLC. Se estudiaron un total de 300 células por dieta y condición experimental (25% y 6% de caseína), se dividió el estudio en tres poblaciones celulares: multipolares (40), fusiformes (35) y ovoides (25) las que se compararon con los animales control y entre las tres edades estudiadas. En general los cambios encontrados entre las edades de 30 y 90 días de los animales control se encontraron aumentados, a excepción del número de espinas dendríticas las que se redujeron y entre los 90 y 220 días se aumentaron el número de espinas. Los animales desnutridos siguieron este mismo patrón solo entre los 30 y 90 días de edad. Los cambios producidos por la dieta fueron aparentes en la extensión de las ramas y en el número de espinas, las que se redujeron de manera significativa en las tres edades estudiadas y en los tres tipos celulares. Estos cambios ponen de manifiesto que las alteraciones tanto anatómicas como en el contenido de las aminas encontrados en los animales desnutridos ponen en desventaja la capacidad de adaptación y respuesta del organismo con su medio ambiente, alterando funciones integrativas en las que la noradrenalina tiene un papel modulador como es la conducta de respuesta dirigida y en el ciclo del sueño y la vigilia, entre otras.

INTRODUCCION

En el cerebro de los mamíferos se han identificado cuatro tipos de neuronas monoaminérgicas que comprenden a la dopamina, norepinefrina, epinefrina y a las neuronas serotoninérgicas, las que en su mayoría con excepción de algunas neuronas dopaminérgicas, se encuentran localizadas en la formación reticular del tallo cerebral. La existencia de estos sistemas neuronales monoaminérgicos, se propuso a principios de los años cincuentas. Sin embargo, se necesitó del desarrollo de métodos histoquímicos sensitivos específicos que demostraron la presencia de catecolaminas intracelulares, estos métodos fueron iniciados por Hillarp y sus colaboradores en Suecia (Andén y col., 1966, Dahlström y Fuxe, 1964, Fuxe, 1965, Hillarp y col., 1966 y Ungerstedt, 1971). Recientemente, el análisis de estos sistemas se ha facilitado por el desarrollo de modificaciones que han hecho más sensible el método original de Falck-Hillarp y la aplicación de nuevos métodos anatómicos como la inmunocitoquímica (Hokfelt y col., 1975, Swanson y Hartman, 1975), la autorradiografía (Cowan y col., 1972) y la técnica de transporte retrógrado con la peroxidasa del rábano (LaVail y LaVail, 1972). El desarrollo de esta metodología junto con las técnicas bioquímicas y farmacológicas, han permitido un mejor conocimiento de la organización y función de este sistema neuronal (Moore, 1980). En especial al sistema productor de norepinefrina se le ha dividido en dos grandes componentes, uno formado por el núcleo locus coeruleus (LC) y el otro por el

núcleo tegmental lateral.

Las monoaminas, junto con los otros sistemas nerviosos participan en la regulación de los mecanismos adaptativos conductuales y homeostáticos de los organismos, por lo que el estudio del LC ha sido de gran interés en sus aspectos anatómicos, bioquímicos y fisiológicos ya que se le ha involucrado en la regulación de diversas funciones que incluyen el tono muscular, la presión sanguínea, analgesia, los mecanismos del ciclo sueño y vigilia, las actividades neuroendócrinas y sensorial, entre otras.

Antecedentes históricos

El NLC, fue descrito en el cerebro del hombre por Reil en 1809, aunque no le asignó el nombre que tiene actualmente, como una depresión en el piso del cuarto ventrículo. Los hermanos Wenzel en 1811, la denominaron Locus coeruleus (LC); Arnold en 1938, le renombró como la substancia ferrugínea. Meynert (1872) sugirió que el núcleo localizado entre la porción medial de la raíz mesencefálica del nervio trigémino es similar a la substancia ferrugínea. Mendel (1978), encontró que algunas de las fibras del trigémino se originan en el LC siguiendo hacia la columna de Clarke en la médula espinal, Gudden (1891) describió que el grosor del LC es de 0.8 milímetros, aproximadamente. Terterjanz (1899) describió fibras del LC cruzando por el núcleo rafe dorsal hacia el fascículo longitudinal medial y las que se juntan rostral y lateralmente

con la raíz mesencefálica del nervio trigémino. Ramón y Cajal describió dos tipos celulares formando al LC (multipolares y fusiformes), y le asignó un posible papel sensorial al núcleo, sin embargo Willems (1911) y Kosaka (1912) no encontraron cromatolisis en las células del LC después de haber seccionado la rama mandibular del nervio trigémino. Lorente de Nó (1922) describió fibras de naturaleza sensorial pasando por el LC, como una vía intermedia entre el nervio trigémino y el cerebelo. Thelander en 1924, encontró que las fibras del LC descienden a la oliva inferior en el tallo cerebral.

En 1943, Riley describió 5 núcleos noradrenérgicos en la región de la unión entre el mesencéfalo y el metencéfalo, y Olszewsky y Baxter en 1954 identificaron a tres de ellas como parte del LC y dos como la porción del subcoeruleus (Fig. 5). El LC se ha estudiado en distintas especies de mamíferos como la zarigüeya (Woodburne, 1943), en el gato (May y Horsley, 1910), en el perro (Kosaka, 1912), en el visón (Tamthai, 1943), en el conejo (Willems, 1911), en el cuyo (Castaldi, 1926), en el mono (Finlay y Cobb, 1940) y en el hombre (Förel, 1877). Russell en 1955, en un estudio anatómico comparativo de distintas especies de mamíferos, concluyó que el LC es similar en la mayoría de ellos, lo que ha sido demostrado por Foote y cols., (1980) en un estudio de la distribución del LC por la reconstrucción tridimensional por computadora del mismo. Además las conexiones aferentes y eferentes son similares en la mayoría de las especies estudiadas (gato, mono y rata) según Hubbard di Carlo (1973) y Felten y col., (1974).

Localización

La citoarquitectura del LC revela que está formado por células de tamaño mediano, redondas, ovales y fusiformes, (Figs. 3, 6 y 6A) las que en los primates adultos contienen melanina. Con la ayuda de las técnicas de fluorescencia para la observación del contenido de las monoaminas cerebrales (Carlsson y col., 1962, Falck, 1962) y de la noradrenalina en el LC (Dahlström y Fuxe, 1964, Ungerstedt, 1971), se ha encontrado que prácticamente el LC es el único con un contenido denso de noradrenalina (NA) y cuyas eferencias van a todo el neuroaxis, lo que le permite ser un núcleo que relaciona las funciones de paso en la facilitación cortical y subcortical del control central para las funciones vegetativas.

Los estudios en el tallo cerebral con fluorescencia realizados por Dahlström y Fuxe en 1964, identificaron al LC como el grupo celular noradrenérgico (A6), cuya porción posterior se identificó como el grupo A4 y a la región rostroventral como subcoeruleus o A7, existiendo células distribuidas en el borde central de la sustancia gris periacueductal mesencefálica a nivel de los colículos inferiores (Fig. 2). Por otra parte las células del LC, además de la noradrenalina, contienen serotonina (Sladek y Walker, 1977), péptidos como la neurotensina (Uhl y col., 1979), la vasopresina y neurofisina (Caffe y Van Lewen, 1983), y la corticotropina (Swanson, 1983) que contribuyen al control central de las funciones vegetativas.

En la actualidad, al Locus Coeruleus o núcleo dorsolateral tegmental en el hombre y en los primates se le identifica como un conjunto de células que se localizan en forma dorsolateral al tegmentum en su porción rostral mesencefálica y caudal mesencefálica, lateral a la sustancia gris pontina, medial a las fibras del brachium conjunctivum y ventral a la raíz y a las células del núcleo trigémino a nivel del mesencéfalo, ya que no posee un borde característico, ha sido difícil el delimitarlo de las estructuras vecinas, sin embargo, en la rata la técnica de Nissl ha permitido identificarlo mejor que en otras especies (Figs. 2 a la 6).

Estructura

En 1970, Shimizu e Imamoto utilizando la técnica de Golgi estudiaron al LC de la rata y describieron tres tipos de células a las que clasificaron como fusiformes y multipolares, de 20 X 15 μm y células ovoides de tamaño pequeño, y además describieron un gran número de sinapsis axodendríticas y axosomáticas en el neuropilo del LC. En estudios posteriores con la técnica de Golgi, Shimizu y col., (1978), estudiaron el LC de ratas de diferentes edades y observaron dos principales tipos de neuronas, unas de tamaño mediano (20 X 35 μm) y células pequeñas (10 X 15 μm). Las células de tamaño mediano tuvieron forma fusiforme y se localizaron en la porción dorsocaudal del núcleo, mientras que las células piramidales de tamaño mediano o células multipolares se localizaron en la parte ventral del núcleo. Ambos tipos celulares muestran

espinas en el soma, similares a los apéndices somáticos descritos por Tatemichi y Ramón-Moliner (1974), del cuerpo celular se originan varias dendritas cortas que se dirigen a diferentes direcciones y se bifurcan una o dos veces, extendiéndose más allá de los límites del núcleo, particularmente a la sustancia gris pontina. Los axones de las neuronas siguen una dirección latero rostral o latero caudal, y además se encuentran colaterales finas de los mismos, haciendo contacto con dendritas de las neuronas del propio núcleo. Estos autores enfatizaron la frecuencia con que observaron los axones colaterales recurrentes, y los relacionaron con los hallazgos electrofisiológicos de Aghajanian y col. (1977).

En estudios posteriores Shimizu y cols. (1979), mediante un estudio de microscopía electrónica describieron contactos dendrodendríticos y dendrosomáticos entre las células que contienen noradrenalina y la evidencia de autoreceptores. También observaron dendritas en contacto con los capilares, sugiriendo una influencia funcional de tipo neurohumoral con los vasos sanguíneos.

Ramón-Moliner (1974) y Ramón-Moliner y Dransereau (1974), efectuaron estudios morfológicos e histoquímicos en el LC del gato y encontraron dos tipos de neuronas, una de tamaño mediano con dendritas relativamente largas a los que denominaron células leptodendríticas e isodendríticas, ya que no presentaban el patrón típico de neuronas reticulares, por lo

que se les comparó con las células pequeñas de la sustancia gris adyacente. En el LC del gato, estos autores encontraron pocos axones recurrentes a las células del mismo.

Swanson en 1976, analizó el LC de la rata con el método de Golgi y describió dos tipos de neuronas, unas de forma multipolar y de tamaño mediano y otras fusiformes más pequeñas y dividió al núcleo en una porción dorsal y otra ventral. Este autor observó que las células fusiformes predominaron en la porción dorsal, en la cual las células se encuentran más empaquetadas y alineadas en forma oblicua en dirección dorsolateral o ventromedial en un plano frontal. En la división ventral del núcleo, el tipo predominante fue el multipolar. También observó que ambas células poseen dendritas relativamente largas y delgadas, que se ramifican una o dos veces y se extienden más allá de los límites del núcleo a las áreas vecinas, en particular al núcleo trigémino y al área gris central. Ambas células presentaron una distribución regular de espinas en sus dendritas y en la mayoría de sus somas. Brzanna y Molliver (1980), utilizando técnicas de inmunocitoquímica, han definido tres regiones en el LC de la rata, pero además encontraron diferencias en el tamaño de los somas de las distintas regiones, así las células más grandes entre 30 y 40 micras se localizaron en la porción ventral del LC. Además distintos autores han encontrado que el número de células que constituyen al LC de la rata es de 1,400 a 1,650 células (Descarries y Soucier, 1972, Ross y Reiss, 1974, y Swanson, 1977), en tanto que el LC del gato presenta 9,150 células

noradrenérgicas (Winklund y col., 1981).

Léger y Hernández-Nicaise en 1980, efectuaron estudios de microscopía electrónica en el LC del gato y describieron tres tipos de células, una de tamaño mediano (30 a 40 μm) con un cuerpo celular alargado, otras neuronas pequeñas con un diámetro de 10 a 25 μm , y entre estos dos tipos de neuronas se encontró una variedad de tamaño intermedio de 15 a 40 μm . Ellos propusieron que las células de tamaño mediano, corresponden a la clase grande de neuronas catecolaminérgicas, mientras que las neuronas pequeñas, se cree que representan interneuronas locales y observaron que los dos subgrupos de neuronas de tamaño intermedio comprenden a las células catecolaminérgicas e indolaminérgicas.

Maeda y col., en 1973, estudiaron con histofluorescencia el LC del gato y encontraron neuronas catecolaminérgicas grandes y pequeñas y Léger y col., (1979), en estudios histoquímicos y de autorradiografía confirmaron la existencia de dos tipos celulares con contenido de catecolaminas en el LC y además describieron un componente celular indolaminérgico, distribuido por todo el núcleo, el cual parece corresponder a los tipos celulares mediano e intermedio, descritos por Léger y Hernández-Nicaise (1980). Las neuronas pequeñas del LC se presume sean interneuronas y varias evidencias indican que no son células monoaminérgicas.

Pfister y Danner en 1980, usaron histoquímica de fluorescencia y la técnica de Golgi en el LC de la rata y describieron tres tipos de neuronas que denominaron poligonales, con espinas somáticas, las cuales contienen monoaminas, neuronas fusiformes y células pequeñas sin espinas. En el mismo año, Groves y Wilson (1980a) estudiaron el LC de la rata con microscopía electrónica y encontraron en el análisis cualitativo que la mayoría de las aferencias del LC hacen sinapsis en sus dendritas y en apéndices parecidos a espinas en el soma y en las dendritas. En un segundo estudio (1980b) analizaron el sistema celular intrínseco del LC, y notaron que las terminales sinápticas catecolaminérgicas en el LC, derivan de sus recurrentes colaterales y de una inervación intrínseca.

Cintra y col., (1982), emplearon la técnica de Golgi rápido en ratas macho de 30, 90 y 220 días, y describieron tres tipos celulares fusiformes, multipolares y ovoides (Figs. 3, 6 y 6A) en los que efectuaron un estudio morfométrico cuantificando el número de dendritas, su diámetro y extensión lineal, y el número de las espinas somáticas, así como la cantidad de espinas en segmentos de 50µm en las dendritas primarias y secundarias, y encontraron que entre los 30 y 90 días se presentó una disminución significativa de espinas en las dendritas primarias y secundarias, seguidas de un aumento significativo entre los 90 y 220 días. También describieron axones recurrentes colaterales que se originaron de las células multipolares y que se proyectaron hacia el soma y las dendritas de las neuronas multipolares (Fig. 6A).

CONEXIONES AFERENTES AL LC

Russell (1955), ha sugerido que al LC llegan fibras de la formación reticular (Scheibel y Scheibel, 1973) del nervio trigemino, de la sustancia gris periacueductal, del fascículo longitudinal medial, de algunas fibras descendentes en el fascículo longitudinal dorsal (Schulz), de la amígdala, del núcleo fastigiado (Snider, 1975) y de las células serotoninérgicas del núcleo rafe dorsal (Conrad y col., 1974), tanto como del cerebro anterior y del hipotálamo (Swanson y Cowan, 1977), de la comisura lateral del lemnisco y del tracto arquiestriato mesencefálico.

CONEXIONES EFERENTES DEL LC

Las proyecciones del LC se han estudiado de manera extensa usando diversas técnicas histoquímicas (Ungerstedt, 1971), de inmunocitoquímica (Swanson y Hartman, 1975) y métodos de autorradiografía, (Jones y Moore, 1977, Pickel y col., 1974), y con técnicas ictofóreticas celulares (Cederbaun y Aghajanian 1978). Se han identificado 5 vías eferentes monosinápticas a través del neuroaxis (Moore y Bloom 1979). Dos proyecciones descendentes entran al tracto tegmental central y atraviesan los fascículos lateral y ventral y se dirigen a la formación reticular medular (Westlund y Coulter, 1980) y por el paquete funicular terminan en la sustancia gris de la médula espinal. Unas pocas fibras se desvían hacia los núcleos sensoriales del tallo cerebral como el complejo coclear

la otra proyección del LC corre por el pedúnculo cerebelar superior, para inervar a la corteza cerebelar. Las otras tres proyecciones son ascendentes una hacia el tegmentum mesencefálico, denominada por Ungerstedt en 1971 como la vía catecolaminérgica dorsal, otra proyección se localiza intermedia hacia la sustancia gris periaqueductal y a la sustancia negra, y una tercera como un componente del fascículo longitudinal dorsal desde el tercio ventral del LC hasta el tegmentum ventral y dentro del paquete medial del cerebro anterior (figura 1).

Las proyecciones terminales del LC fueron estudiadas con fluorescencia por Lindvall y Björklund (1974), quienes han descrito que los axones terminales presentan distinta morfología, con finas varicosidades redondas y regulares espaciadas de 1 a 2 μm de diámetro. El LC inerva a la médula espinal en las columnas ventral y dorsal (Nygren y Olson, 1977), al tallo cerebral, al núcleo coclear (Levitt y Moore, 1978) y a otros núcleos sensoriales, al cerebelo (Olson y Fuxe, 1971), al hipotálamo por el componente de fibras que se dirigen a la sustancia gris periacueductal, y por el fascículo longitudinal dorsal hacia los núcleos del hipotálamo (dorsomedial, paraventricular y al supraóptico en donde terminan con una inervación densa pericelular), en el tálamo, en el telencéfalo basal y en la corteza cerebral. Además se han identificado proyecciones al complejo de la amígdala, al bulbo olfatorio, a la corteza piriforme y al hipocampo (Loy y col., 1980) como se observa en la (figura 1).

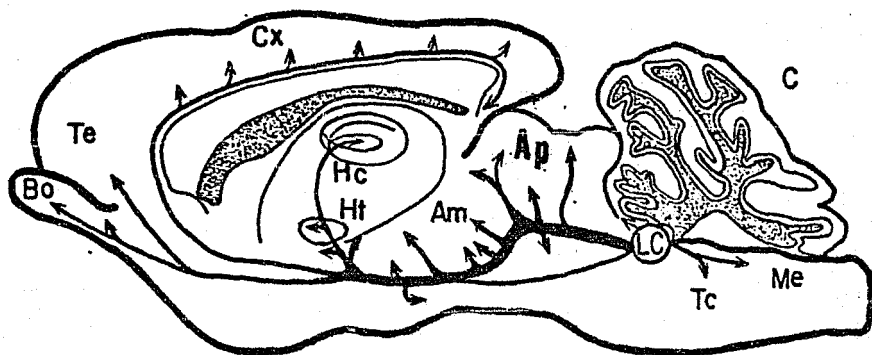


Fig. 1 . Proyecciones del Locus Coeruleus (LC) hacia el área pretectal (Ap), amígdala (Am), hipotálamo (Ht), hipocampo (Hc), corteza (Cx), telencéfalo (Te), bulbo olfatorio (Bo), tallo cerebral (Tc), cerebelo (C) y médula espinal (Me).

La mayoría de estas proyecciones se originan de la porción compacta celular (A4) del LC (Loughlin y col., 1985) y aparentemente esta inervación proviene de las células fusiformes y multipolares de tamaño mediano. Las terminaciones noradrenérgicas del LC en la neocorteza llegan directamente a la capa I (Morrison, y col., 1978) y a las capas II-III, IV y V, las que son espaciadas o de distribución moderada. Cerca del 5% de la inervación cortical proviene del LC contralateral (Ader y col., 1980). Según Nagai y cols. (1981), la inervación masiva del LC a diversas estructuras del SNC es muy grande en relación a la población celular presente en el LC, por lo que una célula podrá inervar simultáneamente a 2 estructuras; por ejemplo, al cerebelo y a la médula espinal, o al cerebelo y a la corteza, o bien al hipocampo y a la médula espinal.

DESNUTRICION

La posibilidad de que la desnutrición durante la vida perinatal puede reducir la capacidad intelectual de los humanos, se ha reconocido desde hace varios años y recientemente se han desarrollado hipótesis acerca de la vulnerabilidad del cerebro durante el desarrollo. En 1968, Dobbing postuló que el cerebro es más vulnerable durante el período de rápido crecimiento cerebral el que ha sido llamado "período crítico", ya que durante esta fase se están llevando a cabo los procesos de crecimiento, diferenciación, y migración

neuronal.

La rata ha sido una de las especies más usadas como modelo animal en el cual se han empleado diferentes métodos de desnutrición que abarcan desde la gestación, lactancia, los estadios juveniles y adultos; en los que se reduce la cantidad de alimento a la madre o a las crías, o bien durante el periodo de lactancia, se separan las crías de la madre por cierto intervalo de tiempo. Otra técnica consiste en aumentar el número de crías de una camada o bien reducir un componente de la dieta, por ejemplo las proteínas para producir una nutrición deficiente.

Para analizar los efectos que produce la desnutrición en el cerebro se han utilizado una variedad de técnicas anatómicas, bioquímicas, conductuales y electrofisiológicas, las cuales han permitido establecer algunos mecanismos acerca de las alteraciones que se producen en el sistema nervioso central (SNC), así como las repercusiones que se producen a corto o a largo plazo.

Los estudios morfológicos han puesto de manifiesto que la desnutrición durante la gestación y la lactancia produce una reducción significativa del peso, corporal afectando a la mayoría de los órganos y tejidos, los cuales no pueden recuperarse, aún si se instala una nutrición adecuada (Bedi, 1987). También se ha observado que se reduce el peso cerebral, si se instala la desnutrición durante la segunda fase de

gestación y el periodo de lactancia, aunque los cambios no son tan aparentes como los del peso corporal. Los estudios neuroanatómicos en los que se ha empleado la técnica de Golgi, han mostrado alteraciones en las células de Purkinje del cerebelo en su longitud dendrítica y en sus patrones de ramificación (Mc Connel y Berry, 1978 y 1981). En relación a la corteza cerebral, se ha encontrado una reducción en su grosor, una disminución de la longitud dendrítica, un menor número de espinas dendríticas, una densidad celular baja y disminución en el rango de sinapsis por neurona (Salas y col., 1974 , West y Kemper, 1976, Morgane y col., 1978, Leuba y Rabinowicz, 1979, y Warren y Bedi, 1982). También se ha reportado que se reduce el número de células de varios campos del hipocampo (Jordan y col., 1982).

Hammer en 1981, estudió los efectos que produce la desnutrición prenatal y posnatal en la formación reticular del tallo cerebral y reportó que la desnutrición prenatal produjo un aumento en la extensión dendrítica al nacimiento y una reducción en el número de protoespinas, mientras que la desnutrición posnatal aumentó el número de protoespinas dendríticas proximales y distales a los 20 días de edad.

Díaz-Cintra y col., (1981), estudiaron al núcleo rafe dorsal en ratas normales y desnutridas que se alimentaron en el periodo prenatal y posnatal con dietas que contenían 25% y 8% de caseína como principal fuente de proteínas en animales de 30, 90, y 220 días. En los animales normales se encontraron

tres tipos celulares que se clasificaron como multipolares, fusiformes y ovoides, y se observó un aumento significativo en las espinas dendríticas entre los 30 y 90 días, y una disminución significativa entre los 90 y los 220 días en los tres tipos celulares; en cambio, los animales desnutridos no mostraron dicha disminución. En estudios posteriores, Cintra y col., 1982 y Díaz-Cintra y col., 1984, encontraron los mismos tipos celulares que en el rafe dorsal, reportando una disminución significativa de espinas dendríticas en los animales normales entre los 30 y 90 días, y un aumento significativo entre los 90 y 220 días. Sin embargo, en los animales experimentales, no se observó dicha disminución.

OBJETIVO

En estudios anatómicos, bioquímicos, conductuales y electrofisiológicos en los que se utilizó una desnutrición hipoproteínica con 8% de caseína, se han reportado efectos menos pronunciados en el sistema nervioso central de la rata, que los que se observan con una dieta de 6% de caseína. Por lo que el objetivo del presente trabajo, fue el estudiar el efecto que produce la desnutrición instalada con una dieta del 6% de caseína, en los tres tipos celulares del núcleo locus coeruleus, con la finalidad de analizar las alteraciones morfológicas que se producen en sus estructuras, para lo cual se formuló la siguiente hipótesis:

HIPOTESIS

Si las células del núcleo locus coeruleus fueron afectadas principalmente por la desnutrición hipoproteínica con 8% de caseína, la dieta con 6% de caseína producirá efectos más severos en diversas estructuras celulares, lo cual puede ayudar a explicar las alteraciones que se produzcan en el sistema monoaminérgico de estos animales.

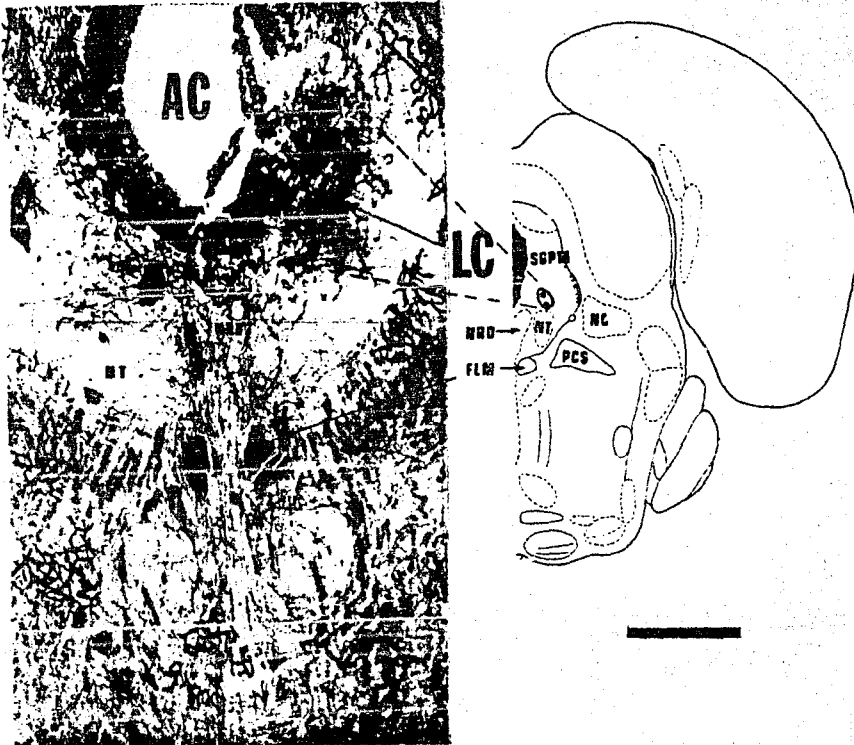


Fig. 2 . Porción rostral del núcleo Locus Coeruleus (LC) en un corte frontal del tallo cerebral de rata teñido con la técnica de Golgi rápido, indicando su relación con las estructuras cercanas: Acueducto cerebral (AC), substancia gris periacueductal mesencefálica (SGFM), núcleo rafe dorsal (NRD), núcleo tegmental dorsal ó de Gudden (NT), pedúnculo cerebelar superior (PCS), fascículo longitudinal medial (FLM).

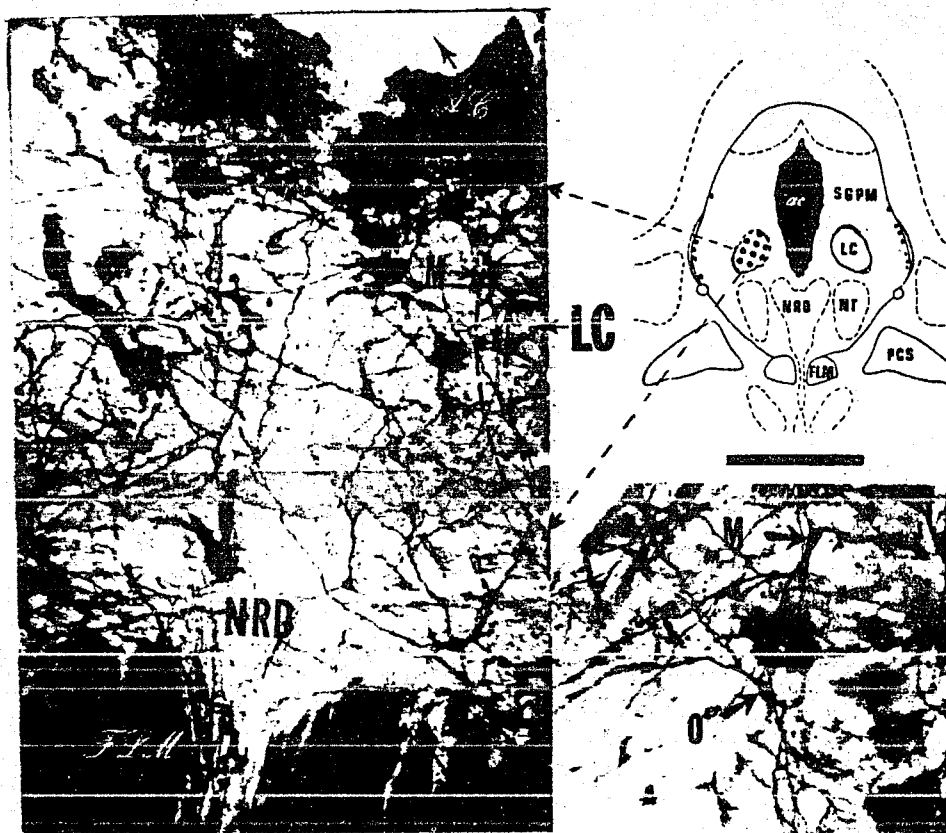


Fig. 3. Aproximación de la porción rostral del Locus Coeruleus (LC) en un corte frontal del tallo cerebral de rata, en el cual se indican con flechas los tipos celulares identificados: multipolar (M), fusiforme (F) y ovoide (O). Acueducto cerebral (AC), substancia gris periacueductal mesencefálica (SGPM), núcleo rafe dorsal (NRD), núcleo tegental dorsal (NT), fascículo longitudinal medial (FLM), pedúnculo cerebelar superior (PCS). La barra representa 500 μ m.

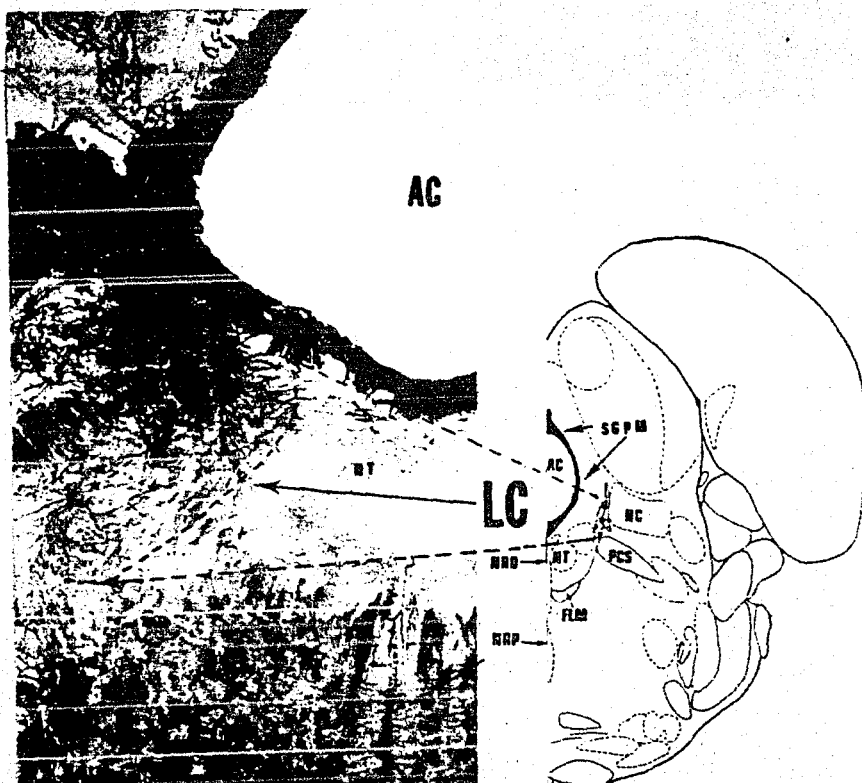


Fig. 4 . Porción medial del núcleo Locus Coeruleus (LC) en el tallo cerebral de la rata y estructuras cercanas: Acueducto cerebral (AC), substancia gris periventricular mesencefálica (SGPM), núcleo cuneiforme (NC), núcleo tegmental ó de Gudden (NT), pedúnculo cerebelar superior (PCS), núcleo rafe dorsal (NRD), fascículo longitudinal medial (FLM), núcleo rafe pontis (RPP). La barra representa 500 μ m.

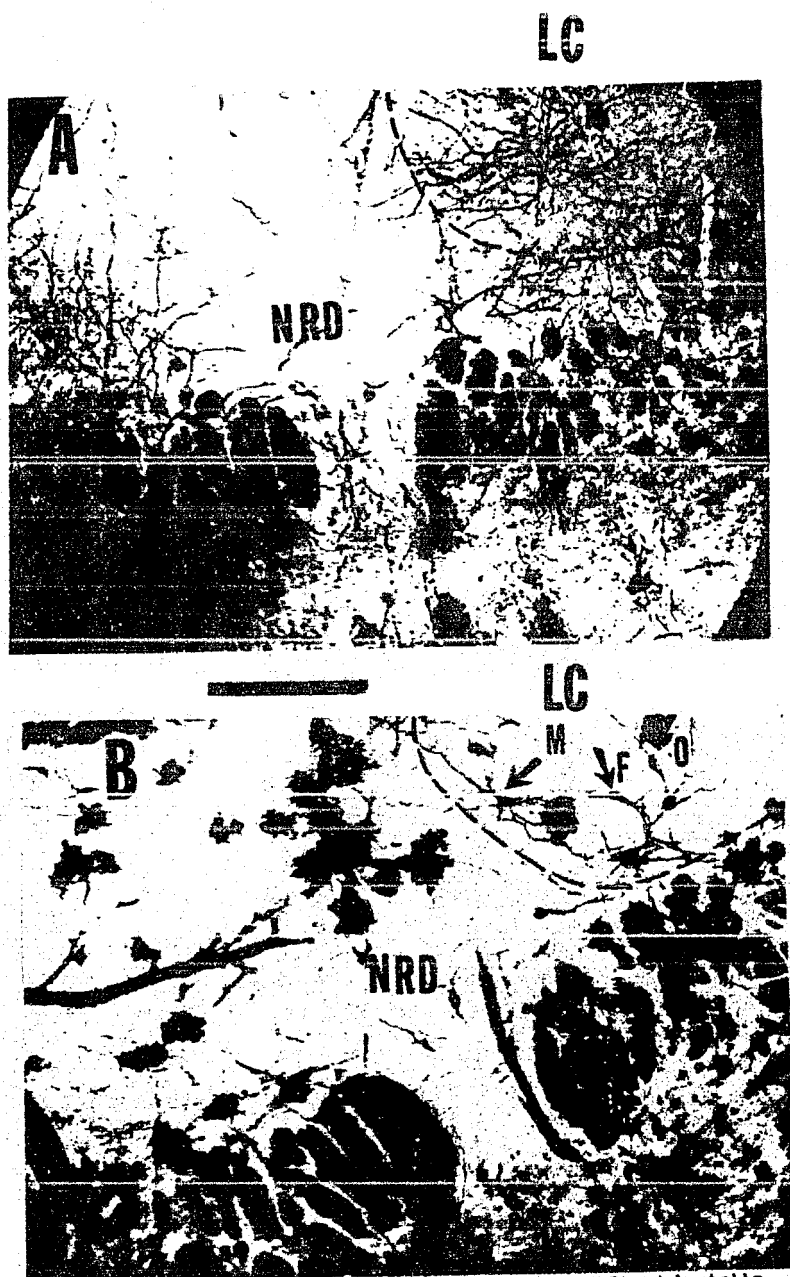


Fig. 6. En A, se muestra el área del Locus Coeruleus (LC) del tallo cerebral en la rata a 129 aumentos. Célula multipolar (M), fascículo longitudinal medial (FLM), núcleo rafe dorsal (NRD). En B, se observan las células multipolares (M), fusiformes (F) y ovoides (O), identificadas en la porción medial del LC, a 200 aumentos. La barra representa 150 μ m.



Fig. 6A. En C, se indica un acercamiento del Locus Coeruleus (LC) a 200 aumentos en donde se observa una célula multipolar (M) con su axón colateral recurrente, y cuyo trayecto esta señalado con flechas; en D, una célula multipolar (M) de un animal desnutrido a los 90 días de edad, en donde se señala con la flecha la falta de espinas en la denorita a 300 aumentos. a, axón; FLM, fascículo longitudinal medial; g, célula glial. La barra representa 50 μ m.

MATERIAL Y METODOS

Para la elaboración del presente estudio se utilizaron 15 ratas hembras de la variedad Sprague-Dawley y el mismo número de machos, con una edad aproximada entre 60 y 75 días, así como un peso corporal en las hembras entre 175 a 200 gramos y de 325 a 350 gramos para los machos. Los animales se mantuvieron en un cuarto del bioterio bajo un ciclo de luz y de oscuridad de 12:12 horas, y con una temperatura controlada en el interior del cuarto de $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Se emplearon dos dietas en el presente estudio, una cuyo contenido de proteína fue de 25% de caseína y otra con un contenido bajo de proteína (6%). La caseína fue utilizada como fuente de proteína en ambas dietas, las cuales tienen la característica de que son isocalóricas y poseen un elevado contenido en grasa. Como la caseína posee un bajo contenido en aminoácidos sulfurados, ambas dietas fueron complementadas adicionando el aminoácido l-metionina (Fig. 7).

Se dividió a los animales destinados para su estudio en dos grupos dependiendo del contenido de proteína en la dieta 25% o 6% de caseína, cada uno constituido por 5 hembras. El grupo I perteneció a los animales sujetos a un régimen alimenticio con 25% de caseína, al cual denominamos grupo control y por otro lado el grupo experimental formado por animales alimentados con una dieta cuyo contenido fue de 6% de caseína. Los machos utilizados en el estudio, consumieron las dietas de 25% y 6% durante una semana previa al apareamiento. Ambas dietas se suministraron a las hembras 4 semanas antes del

TABLA I

COMPOSICION NUTRICIONAL DE LAS DIETAS

COMPONENTES	D I E T A S *	
	25% de Caseína	6% de Caseína
PROTEINAS	21.8	5.5
GRASAS	15.4	15.0
CARBOHIDRATOS	50.9	68.9
SALES MINERALES**	4.7	4.0
VITAMINAS	1.0	1.0
AGUA	2.2	1.2
COMPONENTES NO NUTRITIVOS	4.2	4.2
Kca/g	4.3	4.3

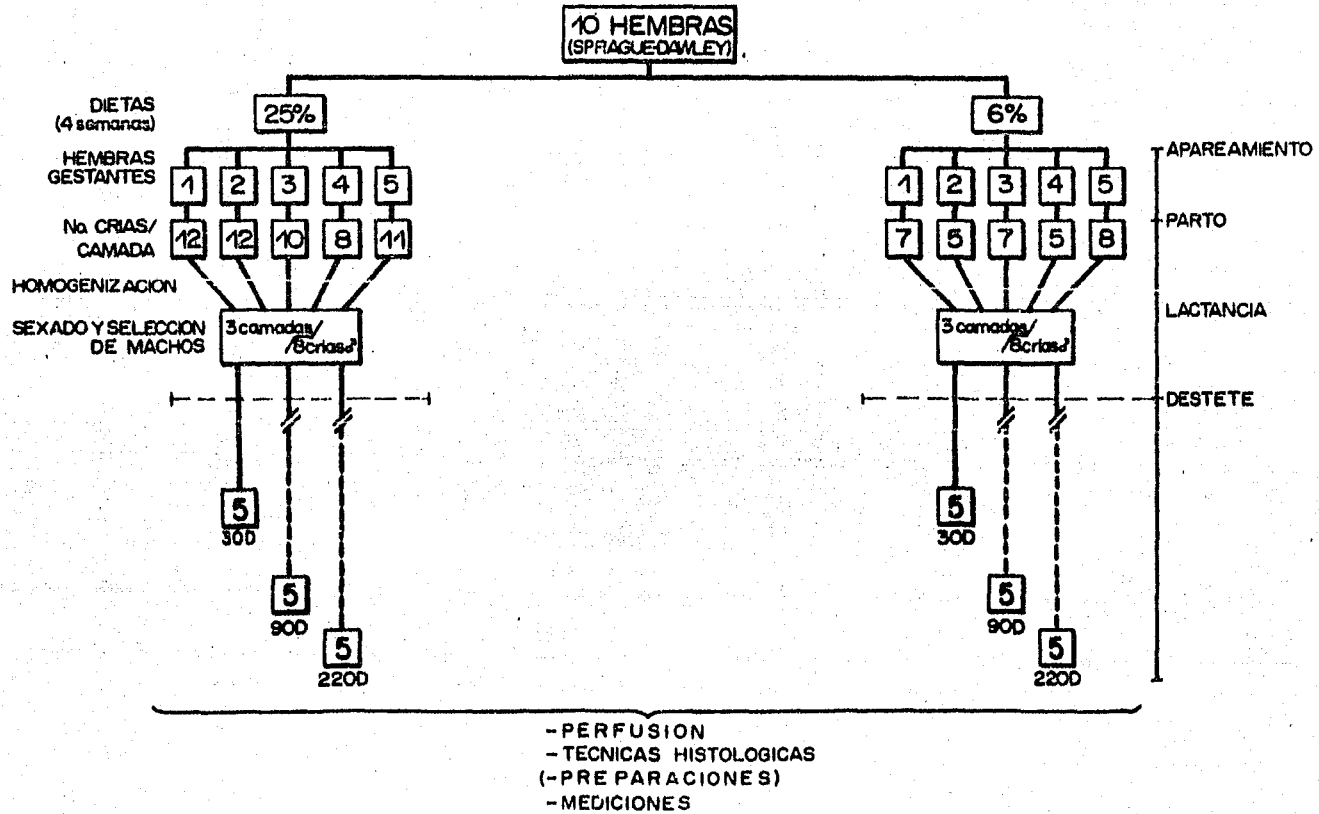
* Las dietas se suplementaron con L-metionina (0.4%) debido a la ausencia de este aminoácido esencial en la caseína.

**Se les adicionó fosfato de calcio monobásico y zinc.

periodo de apareamiento, durante la gestación y lactancia. Las crías que nacieron en el mismo día de diferentes madres, se mezclaron y se asignaron al azar un total de 8 crías por madre, con la finalidad de incrementar la homogeneidad de la población. A los 21 días posnatales se realizó el destete de las crías en cada grupo experimental, separando 4 animales machos por jaula y consumiendo la misma dieta que sus madres hasta que alcanzaron la edad requerida para la realización de nuestro estudio (30, 90 y 220 días). De este modo, se emplearon un total de 30 ratas para el estudio histológico, 15 correspondieron al grupo control (5 sujetos por cada edad, 30, 90 y 220 días), en tanto que las otras 15 correspondieron de manera semejante al grupo experimental (6%) (Cuadro I).

Una vez que los animales alcanzaron la edad requerida (30, 90 y 220 días), cada uno fue anestesiado con una dosis de 40 mg/kg de pentobarbital sódico (Anestesal) por vía intraperitoneal, y cuando alcanzaron el plano anestésico profundo requerido, fueron sometidos a la perfusión intracardiaca la cual se realizó por disección de la piel a nivel del tórax, cortando las costillas por la línea izquierda del esternón y exponiendo al corazón en la cavidad torácica, mediante un separador para facilitar la perfusión. Con una aguja conectada a una venoclisis que a su vez la unía a un recipiente que contenía una solución de formalina amortiguada a un pH de 7.4 fue introducida por el ventrículo izquierdo de la rata, penetrando la solución de formalina para pasar a la circulación sanguínea. Al mismo tiempo se cortó la aurícula

CUADRO I



derecha, drenando la sangre al exterior y a su vez fue sustituida por la solución de formalina utilizada como medio para fijar el tejido cerebral y el resto de los órganos del cuerpo del sujeto. Después se colocó el animal dentro de una bolsa de polietileno, lo anterior con el objeto de que el tejido cerebral adquiriera una consistencia más firme dentro del cráneo y 24 horas más tarde, se extrajo el cerebro de la cavidad craneana y al mismo tiempo auxiliados con el atlas estereotático del cerebro de rata (Paxinos, 1982) delimitamos el área sujeta al estudio para obtener el bloque del tallo cerebral en el cual se localizó el núcleo Locus Coeruleus (LC). En seguida, todos los bloques de tejido seleccionados fueron sometidos a la técnica histológica argéntica de Golgi-rápido (modificación de Díaz-Cintra y col., 1981) que a continuación describimos: los bloques del tallo cerebral del área del LC fueron colocados en una solución de dicromato de potasio al 4.5% (post-fijación) durante 5 horas, luego se colocaron en otra que contenía una mezcla de ácido ósmico al 1% mezclado en 4 partes de dicromato de potasio al 4.5% durante 6 a 12 días. Transcurridos éstos se realizó la diferenciación del tejido con una solución de nitrato de plata al 0.75% durante una hora, después se llevó a cabo un segundo cambio del tejido en la misma solución, permaneciendo por un lapso de 18 a 24 horas, luego fueron lavados con agua destilada, limpiando suavemente la superficie del bloque de tejido para eliminar el exceso de cristales de plata. A continuación, se realizó la deshidratación de los bloques en soluciones de alcoholes graduales (50%, 70%, 80%, 96% y etílico absoluto) durante 30

minutos en cada uno. Después, se depositaron los bloques en una solución con alcohol absoluto y éter sulfúrico volúmen a volúmen durante 8 horas. Para la inclusión, los bloques se colocaron en frascos ambar que contenían nitrocelulosa de baja densidad con diferente concentración (2%, 5%, 7% y 12%) durante 24 horas en cada una, y en nitrocelulosa al 30% durante 48 horas. Al final los bloques fueron colocados en moldes de plástico que contenían nitrocelulosa al 30% y fueron introducidos en un desecador que contenía en su interior cloroformo y puestos al vacío durante 12 horas. Los vapores de cloroformo permiten que se endurezca el bloque de nitrocelulosa en el cual esta contenido el tejido cerebral y al mismo tiempo, el vacío permite la extracción de aire contenido en el bloque. Luego fueron montados en una base metálica de un microtomo Leitz-Westlar modelo 3140, en el cual se realizaron cortes de 100 a 160 μ m de grosor. Los cortes obtenidos fueron colectados en recipientes conteniendo alcoholes graduales (70%, 80%, y 96%) en donde permanecieron 20 minutos en cada uno, y luego fueron cambiados a una serie de soluciones que contenían alcohol isopropílico, y una mezcal de terpinol y xilol (volúmen a volúmen) luego a terpinol solo y permanecieron durante 20 minutos en cada una y en xileno durante 5 minutos; en todos ellos se realizaron dos cambios. Finalmente, los cortes se fijaron a portaobjetos con resina sintética.

El grosor de los cortes se realizó con el propósito de encontrar una mayor densidad de células íntegras. Una vez obtenidas las preparaciones histológicas, se rotularon con

claves de la edad, dieta y número de sujeto experimental. Enseguida se ocultó la clave y se mezclaron las preparaciones, para efectuar el análisis morfométrico a ciegas.

Basados en estudios previos (Díaz-Cintra y col., 1981, Cintra y col., 1982) identificamos los tipos celulares por ellos descritos y se realizó el análisis morfométrico en nuestro material histológico. Previamente, llevamos a cabo la calibración del microscopio mediante el uso de una retícula micrométrica en el ocular, la cual se hizo coincidir con otra reglila calibrada en μm en el campo visual del microscopio de tal manera, que se conoció en cada aumento empleado, el valor en μm de la primera retícula. De esta manera se realizó la medición del eje mayor y menor (MA y ME) del soma, el diámetro de las dendritas primarias y secundarias (DIP y DIS), la extensión lineal de las dendritas primarias y secundarias (ELP y ELS). También se cuantificaron el número de espinas del soma (ES), y de las dendritas primarias y secundarias en un segmento de 50 μm en la parte media de su extensión total (EDP y EDS) y el número de dendritas primarias y secundarias (DP y DS); todas estas mediciones se realizaron en los tipos celulares multipolar, fusiforme y ovoide identificados en el núcleo Locus Coeruleus del cerebro de rata de 30, 90 y 220 días de edad. El número total de células analizadas fue de 600; de las cuales 40 correspondieron al tipo multipolar, 35 al fusiforme y 25 al ovoide, en cada edad y dieta estudiadas (Fig. 7).

Una vez obtenido el total de mediciones, fueron sometidas al análisis estadístico, con dos pruebas estadísticas distintas, una de ellas para datos paramétricos (Prueba "t" Student), y la otra para el análisis de datos no paramétricos (Prueba de "U" Mann-Whitney). Por otra parte, se analizaron los efectos debidos a la edad, con la prueba de "t" de Student.

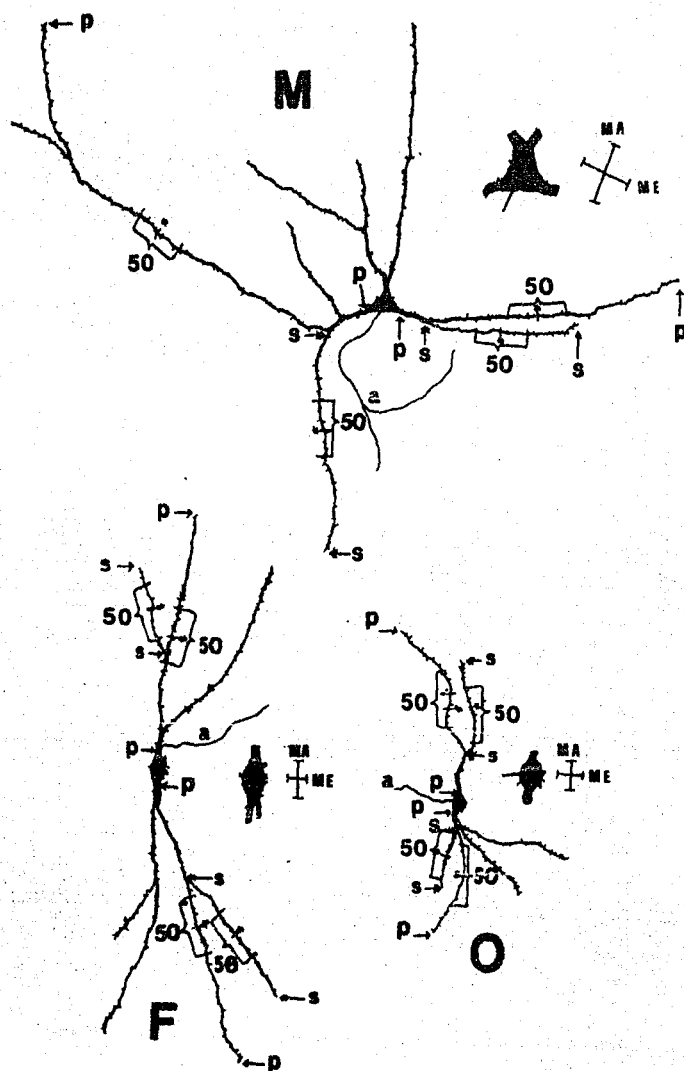


Fig. 7. Dibujos con la cámara lúcida a 400X, en donde se observan los 3 tipos celulares encontrados en el núcleo Locus Coeruleus: multipolar (M), fusiforme (F) y ovoide (O); en los cuales se efectuaron las siguientes mediciones: eje mayor (MA) y menor (ME) del soma, la extensión lineal medida en las dendritas primarias (P) y secundarias (S) y el segmento de 50 micrones en donde se midieron el número de espinas, el asterisco indica el sitio en el cual se midió el diámetro de las dendritas. a, axón.

RESULTADOS

Los resultados morfométricos que se obtuvieron en el presente estudio se dividieron en cambios producidos por la desnutrición con 6% de caseína y cambios debidos al factor edad en las células multipolares, fusiformes y ovoides del núcleo locus coeruleus en ratas macho de 30, 90 y 220 días de edad.

CELULAS MULTIPOLARES

Las células multipolares de los animales desnutridos mostraron reducciones significativas a los 220 días en el eje mayor y menor del soma ($p < 0.01$ y $p < 0.001$) respectivamente (Fig. 8 y 9). La figura 10 muestra las reducciones significativas en el número de las espinas somáticas con $p < 0.001$ a los 30 y 90 días y $p < 0.05$ a los 220 días. El número de dendritas primarias (DP) se redujo en forma significativa en las tres edades con una $p < 0.001$ y las dendritas secundarias (DS), presentaron una reducción en los 30 días ($p < 0.01$) y otra a los 220 días ($p < 0.001$) como se observa en la figura 11. La extensión lineal presentó reducciones significativas de $p < 0.001$ en las dendritas primarias (ELP) y secundarias (ELS), en las tres edades estudiadas (Fig. 12). El diámetro de las DP se redujo en forma significativa ($p < 0.01$) a los 30 días y también se disminuyó a los 90 y 220 días con $p < 0.001$ en ambas edades (Fig. 13). La densidad de las espinas dendríticas disminuyó en forma significativa en las dendritas primarias (EDP) y secundarias (EDS) con una $p < 0.001$ en las tres edades estudiadas (Fig. 14).

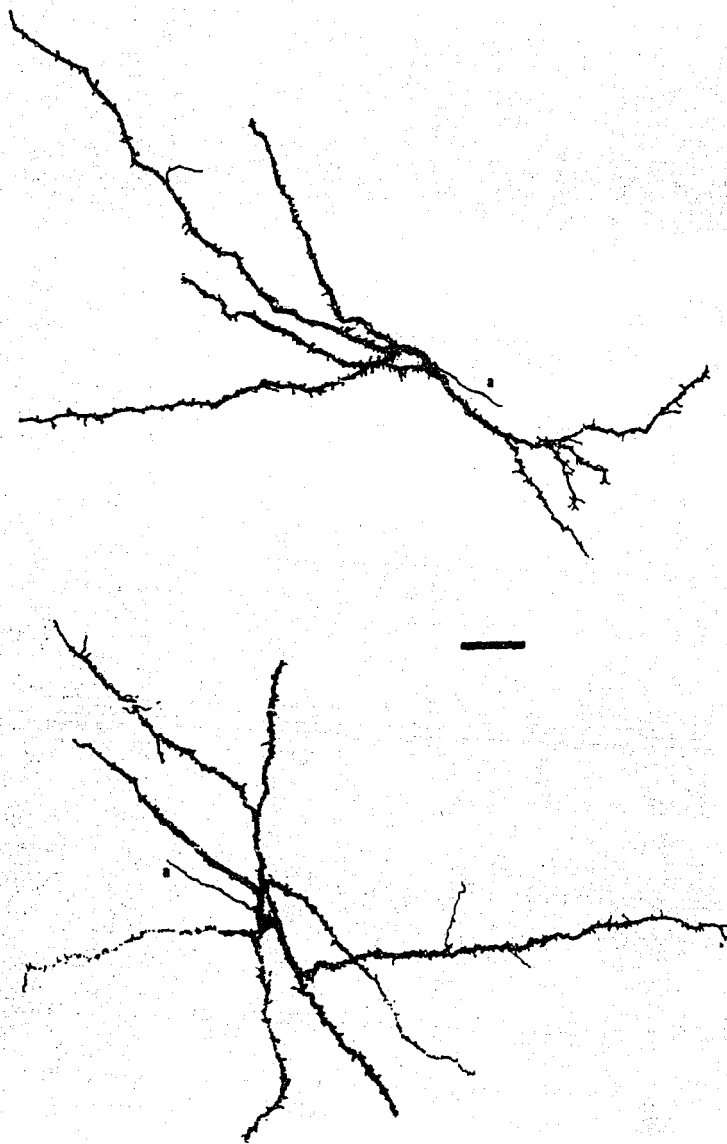


Fig. 8. Dibujo utilizando la cámara lúcida a 400X de dos células multipolares del núcleo locus coeruleus. Arriba una neurona de un animal control (25% de caseína) y abajo una célula de un animal desnutrido con una dieta de 6% de caseína. Obsérvese el efecto de la desnutrición sobre la forma del soma, de sus dendritas y de sus espinas. a, axón. La barra representa 50 μ m.

En cuanto a los cambios producidos por la edad, las células multipolares de los animales control presentaron disminuciones significativas de $p < 0.001$ en el número de espinas de las DP con un 30% y de las DS con 28%, entre 30 y 90 días y entre 90 y 220 días, mostraron una disminución significativa del 13% con $p < 0.05$ en el eje mayor y un aumento del 22% de $p < 0.01$ en el eje menor. El número de espinas somáticas se redujo con un 49% con $p < 0.05$ y el diámetro aumentó en 12% y 8% en las DP y DS con $p < 0.05$ en ambas y aumentaron en la extensión lineal de la DP, en un 19% con $p < 0.01$, y en número de ambas dendritas DP y DS con 51% y 27% ambos con $p < 0.001$. Los animales desnutridos con 6% de caseína mostraron entre 30 y 90 días un aumento significativo en el número de DS en un 25% con $p < 0.01$ y también hubo un aumento del 23% en la extensión lineal de las DS ($p < 0.05$). El número de espinas de ambas dendritas se redujo en 36% y 29% con $p < 0.01$ entre esas edades. Entre 90 y 220 días los animales desnutridos, mostraron un aumento del 39% en el número de las espinas somáticas ($p < 0.05$) y también mostraron incrementos significativos del 12% en la extensión lineal de la DP ($p < 0.05$) y el número de espinas de la DS ($p < 0.001$) en 39%, como se puede observar en la Tabla II.

CELULAS FUSIFORMES

Las células fusiformes de los animales alimentados con la dieta de 6% de caseína, presentaron un aumento significativo en el eje menor de $p < 0.01$ a los 90 días (Fig. 9) . La

densidad de las espinas somáticas se redujo a los 30 y 220 días con $p < 0.001$ (Fig. 10). El número de DP se redujo con una $p < 0.001$ a los 30 días, y a los 220 días con $p < 0.05$, sin embargo ambas dendritas aumentaron a los 90 días con $p < 0.01$ (Fig. 11). La extensión lineal de las DP y DS se redujo en las tres edades con $p < 0.001$ (Fig. 12). En la figura 13 se puede observar que el diámetro de las DP, se redujo a los 30 y 220 con $p < 0.001$, en cambio a los 90 días se incrementó con un $p < 0.001$, así como el diámetro de las DS aumentó con $p < 0.001$ a los 30 y 90 días y $p < 0.05$ a los 220 días. También se redujo en la densidad de espinas en las DP ($p < 0.001$) en las tres edades estudiadas y la densidad de las espinas de las DS a los 30 días ($p < 0.05$), a los 90 días ($p < 0.01$) y a los 220 días con $p < 0.001$. (Fig. 14).

Los cambios ocurridos por la edad en los animales control, entre 30 y 90 días, mostraron un aumento del 11% significativo ($p < 0.01$) en el diámetro de las dendritas primarias y un aumento del 11% similar ($p < 0.05$) en su extensión lineal. El número de espinas de las DP y DS disminuyó 22% y 19% con $p < 0.001$, y entre 90 y 220 días disminuyó en 12% el número de las DS ($p < 0.05$), y aumentó el número de espinas 39% y 28% en las DP y la DS ambas con $p < 0.001$. En cambio, los animales desnutridos de 30 y 90 días aumentaron 22% el eje menor y en 51% el número de dendritas secundarias ($p < 0.01$), así como también aumentaron en 59% y 63% el diámetro de las DP y las DS ($p < 0.001$) y se disminuyó en 14% la extensión lineal de las DP ($p < 0.01$). También se disminuyó en un 31% y 18% el número de espinas en ambas

dendritas con $p < 0.001$ y $p < 0.01$ respectivamente. Entre 90 y 220 días los animales desnutridos redujeron en un 26% ($p < 0.001$) el eje menor y en un 43% el número de espinas somáticas ($p < 0.05$). El diámetro de las DP y DS se redujo en 36% y 37% con $p < 0.001$ y $p < 0.01$ respectivamente, y aumentó en un 90% la extensión lineal de la DP ($p < 0.001$), como se observa en la Tabla II.

CELULAS OVOIDES

Las células ovoides de los animales desnutridos redujeron el eje mayor con $p < 0.001$ y aumentaron el eje menor a los 30 días ($p < 0.001$). A los 90 días el incremento se presentó en el eje mayor ($p < 0.01$), como se observa en la figura 9. En la figura 10 se muestra que el número de espinas somáticas se redujo a los 220 días con $p < 0.001$. El número de ambas dendritas no se vio afectado por la dieta en las tres edades estudiadas (Fig. 11). La extensión lineal de las DP y DS, disminuyó de manera significativa ($p < 0.001$) en todas las edades estudiadas, con excepción de las DS a los 90 días (Fig. 12). El diámetro de las DP y las DS se aumentó con $p < 0.001$ a los 30 días, y el de las DS mostró aumentos similares de $p < 0.001$ a los 90 y 220 días (Fig. 13). La densidad de las espinas dendríticas disminuyó de manera similar en las DP a los 90 días con $p < 0.001$ y en ambas dendritas con $p < 0.001$ (Fig. 14).

En cuanto a los cambios producidos por la edad entre 30 y 90 días, las células ovoides de los animales normales aumentaron en 29% ($p < 0.001$) el eje menor y disminuyeron el diámetro con 15% y 33% de ambas dendritas con $p < 0.001$ y aumentó en 14% la extensión lineal de las DP ($p < 0.05$) y el número de espinas disminuyó en 35% y 39% ($p < 0.001$) en ambas dendritas. Entre 90 y 220 días, aumentó en un 10% el diámetro de las DS ($p < 0.01$), así como también aumentó en un 18% la extensión lineal de ambas dendritas ($p < 0.01$) y el número de sus espinas en un 71% y 86% ($p < 0.001$) respectivamente. Los animales desnutridos entre 30 y 90 días aumentaron en un 34% y 33% ($p < 0.001$) el eje mayor y menor del soma y redujeron en un 66% el número de espinas somáticas ($p < 0.05$), y en un 30% el diámetro de las DP ($p < 0.01$) y en un 23% las DS ($p < 0.001$). La cantidad de espinas de ambas ramas se redujo en un 55% y 40% ($p < 0.001$). Finalmente, entre 90 y 220 días se redujo el eje mayor en 11% ($p < 0.05$) y la extensión lineal de las DS con 20% ($p < 0.01$), como se puede observar en la Tabla II.

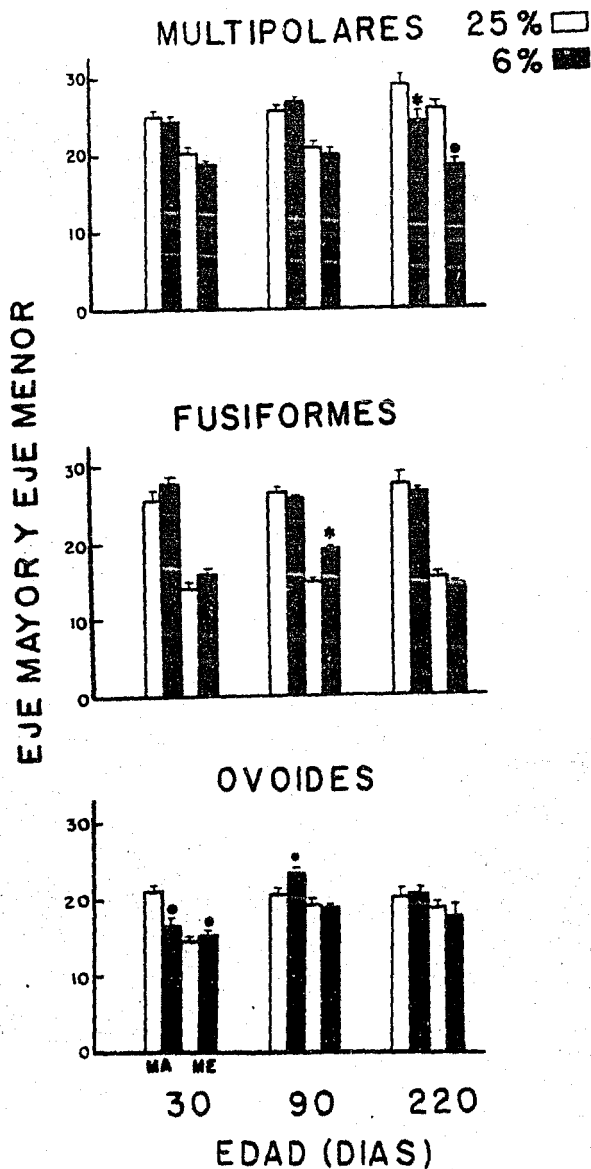


Fig. 9. Efecto de la administración de una dieta hipoproteínica (6% de caseína) en ratas de 30, 90 y 220 días de edad comparado con los de una dieta control (25% de caseína) sobre el tamaño de los ejes mayor y menor del soma (MA y ME) de los tipos celulares identificados en el núcleo locus coeruleus. Obsérvese que en las células multipolares hay reducciones significativas en el tamaño de ambos ejes a la edad de 220 días. En tanto que en las células fusiformes se aprecia un aumento significativo en su eje menor por efecto de la dieta de 6% a los 90 días de edad. En las células ovoides se redujo el tamaño de su eje mayor del soma por la dieta de 6%, no así su eje menor que aumentó, ambos a la edad de 30 días. Por otro lado, a los 90 días, el eje mayor del soma en los sujetos desnutridos (6%) aumentó de tamaño en relación al control (25%). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$..

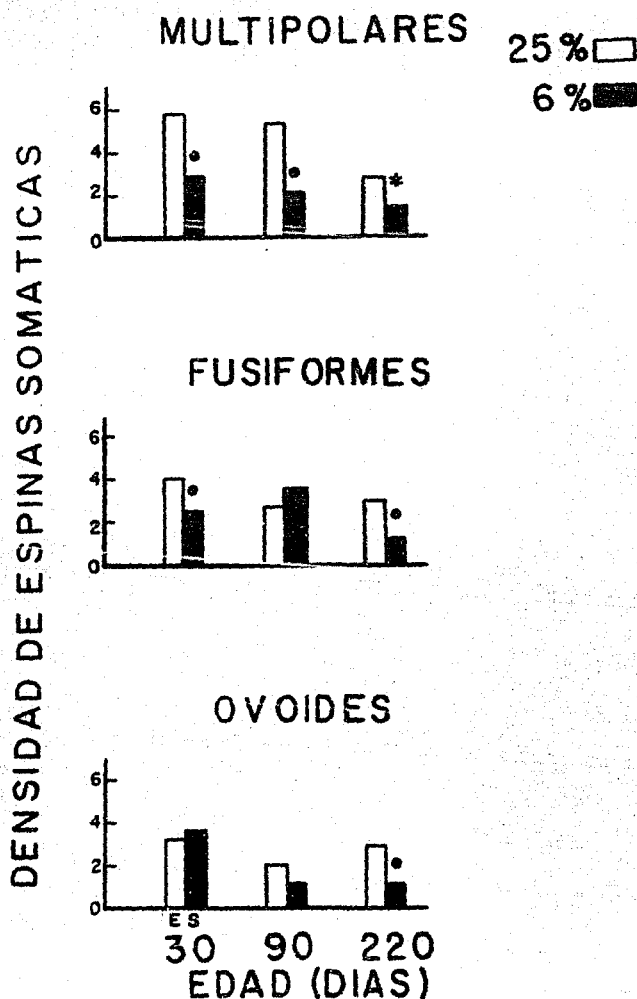


Fig. 10 . Efecto de la administración de una dieta hipoproteínica (6% de caseína) sobre la densidad de espinas somáticas en los tipos celulares identificados en el núcleo locus coeruleus de ratas de 30, 90 y 220 días de edad comparados con los animales control (25% de caseína). Obsérvese que las células multipolares redujeron significativamente la densidad de espinas somáticas por efecto de la dieta de 6% en la tres edades estudiadas. En las células fusiformes su reducción fue a las edades de 30 y 220 días por efecto de la dieta 6%, en tanto que las células ovoides mostraron esta reducción a la edad de 220 días. * $P < 0.05$; * $P < 0.01$; ● $P < 0.001$.

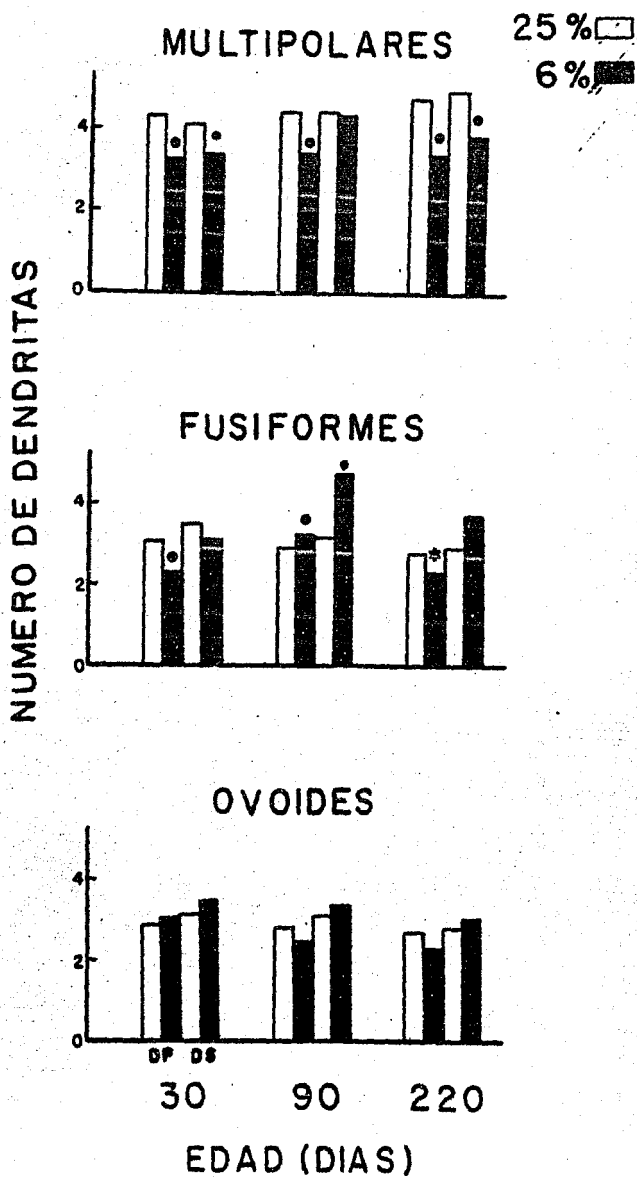


Fig. 11. Efecto de la administración de una dieta hipoproteínica (6% de caseína) sobre el número de dendritas primarias (DP) y secundarias (DS), comparadas con los controles (25% de caseína). Nótese que en las células multipolares hay reducciones significativas del número de DP y DS a las edades de 30 y 220 días, y únicamente se observa reducido en las DP a los 90 días. En las células fusiformes se observa disminución en el número de dendritas primarias por efecto de la dieta de 6% a los 30 y 220 días de edad, en tanto que a los 90 días se observa aumento en el número de DP y DS por la dieta del 6% y finalmente las células ovoides no mostraron cambios significativos.
 * $P < 0.05$; * $P < 0.01$; ● $P < 0.001$.

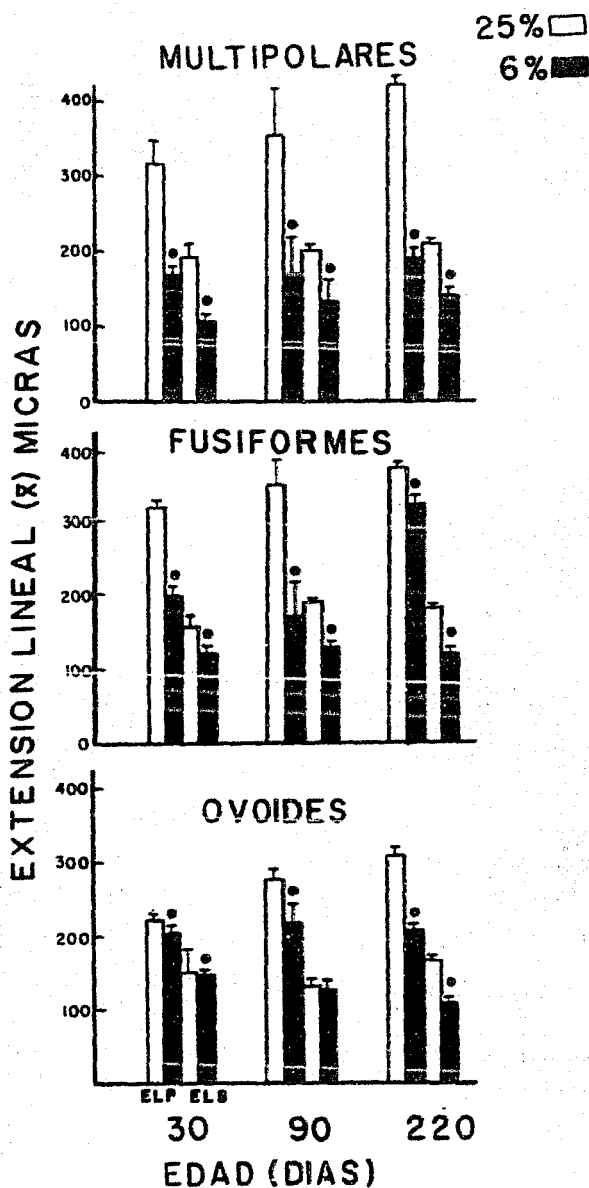


Fig. 12 . Efecto de la administración de una dieta hipoproteínica (6% de caseína) sobre la extensión lineal de la dendrita primaria (ELP) y secundaria (ELS) comparados a los observados por efecto de una dieta control (25% de caseína). Nótese que salvo en un caso, todas las reducciones significativas de la extensión lineal de las dendritas primarias y secundarias en todas las edades estudiadas y en los tres tipos celulares analizados se observaron reducciones altamente significativas con ● $P < 0.001$.

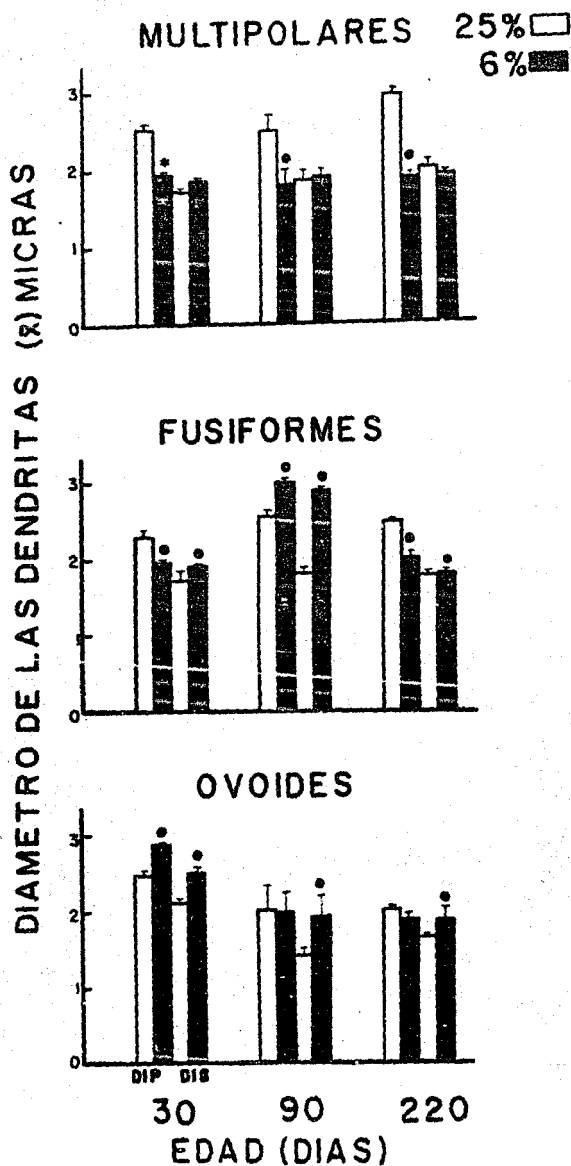


Fig. 13. Efecto de la desnutrición hipoproteínica (6% de caseína) sobre el diámetro de las dendritas primarias (DIP) y secundarias (DIS). Obsérvese que en las células multipolares hay una reducción significativa en el diámetro de las DP en todas las edades estudiadas; en las células fusiformes se presenta una reducción significativa en el diámetro de ambas dendritas primarias y secundarias a los 30 y 220 días y un aumento significativo en ambos tipos de dendritas a los 90 días de edad. Por otra parte, en las células ovoides hubo aumentos significativos en ambas dendritas a los 30 días de edad y en las dendritas secundarias a los 90 y 220 días. * $P < 0.05$; * $P < 0.01$; ● $P < 0.001$.

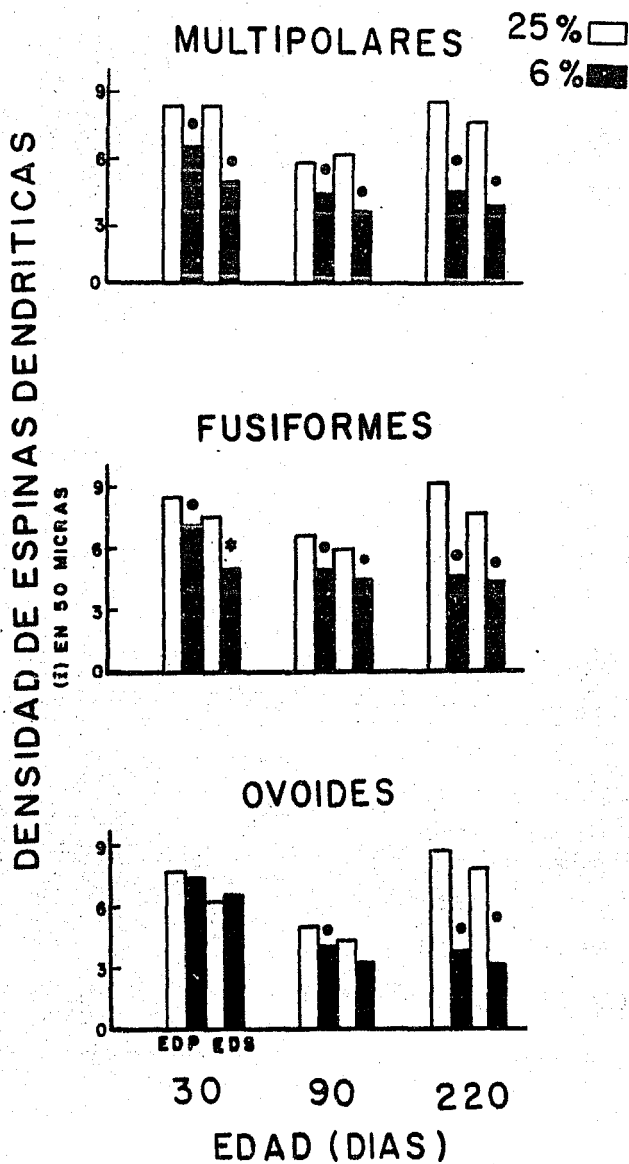


Fig. 14 . Efecto de la desnutrición hipoproteínica (6% de caseína) sobre la densidad de espinas dendríticas primarias (EDP) y secundarias (EDS). Se puede apreciar una clara disminución de la densidad de espinas dendríticas primarias y secundarias en los tipos multipolar y fusiforme en las tres edades estudiadas. En tanto que, el tipo ovoide solo presentó reducciones significativas en la densidad de EDP a los 90 días y a los 220 días en ambas EDP y EDS. * $P < 0.05$; * $P < 0.01$; • $P < 0.001$.

TABLA II

PORCENTAJES DE LOS CAMBIOS PRODUCIDOS POR LA EDAD EN LAS CELULAS DEL NUCLEO LOCUS COERULEUS EN RATAS DE TRES EDADES.

EDAD	PERIKARIA			DENDRITAS							
	EJES			NUMERO		DIAMETRO (µm)		EXTENSION LINEAL µm		NUMERO DE ESPINAS 50 µm	
	MA (µm)	ME (µm)	ES	DP	DS	DP	DS	DP	DS	DP	DS
MULTIPOLARES											
CONTROL											
30 vs 90											
	+ 2	+ 3	-22	+ 2	+ 8	+ 2	+ 7	+ 4	+ 5	-32 [⊙]	-28 [⊙]
90 vs 220	+13*	+22	-49*	+ 7	+10	+12*	+ 8*	+19*	+ 4	+51 [⊙]	+27 [⊙]
EXPERIMENTAL											
30 vs 90											
	+ 9	+ 5	-16	+ 4	+25	+ 6	+ 2	+0.1	+23	-36 [⊙]	-29 [⊙]
90 vs 220	- 9	- 9	+34*	- 2	-12	-5	0	+12*	+ 5	+ 3	+24 [⊙]
FUSIFORMES											
CONTROL											
30 vs 90											
	+ 2	+ 4	-35	- 7	- 5	+11*	+ 8	+11*	+ 7	-22 [⊙]	-19 [⊙]
90 vs 220	+ 2	+ 2	+14	- 3	-12*	- 3	- 4	+ 6	- 1	+39 [⊙]	+28 [⊙]
EXPERIMENTAL											
30 vs 90											
	- 5	+22*	-37	+48	+51*	+59 [⊙]	+63 [⊙]	-14*	- 5	-31 [⊙]	-18*
90 vs 220	+ 3	-26 [⊙]	-63*	-39	-42	-36 [⊙]	-37*	+90 [⊙]	+11	+ 4	+ 3
OVOIDES											
CONTROL											
30 vs 90											
	- 1	+29 [⊙]	-36	- 4	-12	-15 [⊙]	-33	+14*	- 6	-35 [⊙]	-34 [⊙]
90 vs 220	+ 1	+ 2	-41	- 6	-12	+ 2	+10*	+18*	+18*	+71 [⊙]	+86 [⊙]
EXPERIMENTAL											
30 vs 90											
	+34 [⊙]	+33 [⊙]	-68	-24	-10	-30*	-23 [⊙]	- 2	- 8	-55 [⊙]	-40 [⊙]
90 vs 220	-11*	-10	+ 4	- 8	-10	- 8	- 8	- 1	-20*	- 5	- 3

DP= DENDRITAS PRIMARIAS, DS= DENDRITAS SECUNDARIAS, ES= ESPINAS SOMATICAS.

*P < 0.05; *P < 0.01; ⊙P < 0.001.

DISCUSION

El presente trabajo de tesis, forma parte de una serie de estudios realizados en los núcleos aminérgicos del tallo cerebral de la rata, normal y desnutrida con dietas isocalóricas e hipoproteínicas con 8% y 6% de caseína. Nuestros resultados se obtuvieron de las células que constituyen al núcleo locus coeruleus (LC), las que según autores previos, se han clasificado en tres tipos principales: multipolares, fusiformes y ovoides. En estas células fueron medidos un total de 11 parámetros en tres edades y en dos condiciones experimentales, en las que se encontraron 25 reducciones significativas en las células multipolares, 18 en las fusiformes y 10 en las ovoides, estas últimas células mostraron además, incrementos en algunos parámetros celulares.

Los cambios encontrados en estos tres tipos celulares del LC, revelan que la desnutrición crónica con 6% de caseína, afecta de una manera selectiva a las células del LC y además estos cambios ocurren de manera distinta según se estudien en las ratas en edades diferentes. Las células multipolares mostraron el mayor número de cambios significativos, y en ellas se afectó la extensión lineal de sus dendritas, el número de las ramas y de las espinas dendríticas que estuvieron reducidas en las tres edades estudiadas. Estas células se localizaron en la porción ventral del núcleo que según Shimizu 1970; Swanson 1976 y Shimizu y col., 1978, corresponden al tipo poligonal o multipolar mediano, y son productoras de aminas (Descarries,

1972) además de presentar un axón con colaterales recurrentes (Aghajanian, y cols., 1977).

En cambio las células fusiformes, mostraron aumentos en algunos parámetros como en el eje menor del soma a los 90 días, en el número de ramas y en el grosor de las dendritas. Las células ovoides mostraron aumentos en el diámetro de las dos ramas primarias y secundarias y en el eje mayor a los 90 días. Estos aumentos en comparación con la reducción en el número de las espinas dendríticas y de la extensión lineal, explican de manera parcial el hecho de que éstas células tratan de compensar esta pérdida por efecto de la desnutrición. Sin embargo, el factor edad, es otra de las respuestas adaptativas en estas células, como lo demuestran los resultados de las comparaciones efectuadas entre las edades de 30 vs 90 y 90 vs 220 días. En las células multipolares y fusiformes de los animales desnutridos, existe una tendencia al aumento del número de ramas (entre los 30 y 90 días) y del diámetro de las dendritas en las células fusiformes, sin embargo el número de espinas dendríticas en los animales control se vió disminuido entre 30 y 90 días y luego aumentados entre 90 y 220 días como lo muestra la Tabla II. Por otra parte los animales desnutridos mostraron un decremento entre los 30 y 90 días de edad del número de espinas, el cual no se recupera entre los 90 y 220 días, este hecho se relaciona con la disminución de la plasticidad de las neuronas del LC a la edad de 220 días. Este hallazgo, explica un tanto lo propuesto por Resnick y col., (1982), que la desnutrición hipoproteínica produce efectos

ocultos y evidentes en el cerebro de la rata.

En un estudio morfométrico previo de Díaz-Cintra y col., (1982), se clasificó al núcleo rafe dorsal como un núcleo serotoninérgico, así como también se identificaron el mismo tipo de células, pero a diferencia del NLC, el número de las espinas en los animales normales se encuentra aumentado entre los 30 y 90 días, posteriormente disminuye entre los 90 y 220 días, lo que pone en evidencia la distinta plasticidad de los dos sistemas aminérgicos que se sabe tienen una regulación inhibitoria.

En un estudio similar a este pero utilizando una dieta con 8% de caseína, Díaz-Cintra y cols, en 1984, encontraron que las células multipolares fueron alteradas en su tamaño celular a los 220 días de edad, en tanto que la extensión lineal de esas células se redujo de manera significativa en las tres edades estudiadas. En nuestro estudio las células multipolares resultaron ser las más afectadas por la desnutrición del 6% de caseína, lo cual sugiere la posibilidad de deficiencias funcionales en este sistema noradrenérgico, en los animales desnutridos, particularmente, en los dos componentes de proyección caudal del LC, que como se sabe; inervan a la formación reticular medular (Westlund y Coulter, 1980) y por el paquete funicular que termina en la médula espinal. Se conoce que estos dos componentes se originan de las células multipolares de tamaño mediano de la porción caudal y ventral del LC. Estudios más recientes, de Grzanna y col., (1987), han

mostrado que las células del LC inervan exclusivamente a los núcleos motores del tallo cerebral y de la médula espinal. La observación de la homología entre los núcleos motores del tallo cerebral y de la médula espinal fué realizada desde 1891 por His, por lo que la inervación de las células del LC (A5) y del subcoeruleus (A7) hacia estos núcleos se suponía desde entonces. Además se sabe que las células del LC que proyectan a la médula espinal se concentran en las porciones ventral y caudal del LC (Westlund y col., 1981 y 1983., Akeyson y col., 1983) y las células que proyectan hacia el trigémino se localizan esparcidas en la porción dorsal y medial del LC. Por otra parte se sabe también que los grupos celulares clasificados como A5 y A7 responden de manera diferente a los estímulos del medio ambiente (Guyenet y Byrum, 1985).

Nuestros resultados pueden explicar en cierta manera el hecho de que los animales desnutridos presentan una hiperactividad muscular, la que se relaciona tanto con los niveles elevados de aminas biogénicas, que se han encontrado en los animales nutridos con estas dietas hipoproteínicas (Miller y col., 1980), así como con la inervación selectiva del LC hacia los núcleos motores medulares.

Las proyecciones rostrales del LC hacia los núcleos del hipotálamo, provienen en su mayoría de la porción dorsal del LC y en particular de las células fusiformes, las cuales mostraron aumentos en ciertos patrones celulares por efecto de la desnutrición con 6% de caseína. La importancia funcional que

puede tener esta inervación es muy interesante, ya que como se sabe el hipotálamo es un importante regulador de las funciones endocrinas y autónomas. Loghlin y col., 1986, han reportado proyecciones eferentes hacia diversas estructuras de subpoblaciones del LC, sugiriendo una organización intrínseca del núcleo con respecto a las conexiones eferentes.

Los estudios de desarrollo en el LC en el humano, indican que sus células se forman poco antes del nacimiento, en especial en la porción ventral del mismo, alcanzando hasta la decimocuarta semana posnatal, y por otro lado, las neuronas de la porción dorsal aparecen más tarde, estableciendo conexiones ascendentes con las estructuras rostrales y estas se pierden cuando ocurre el desarrollo cerebral de la segregación de proyecciones que se encuentran en el cerebro adulto.

Por lo que respecta al tamaño del soma, las células multipolares y fusiformes midieron de 26 a 28 μm en el eje mayor y corresponden a las células de tamaño mediano localizadas por Shimizu y col., (1978) en el cerebro de la rata. Las células fusiformes y ovoides, se encontraron en el rango de 15 a 20 μm y se les pudo relacionar al tipo pequeño encontrado por los mismos autores en el LC de la rata. En nuestro estudio además se observó, un aumento progresivo del tamaño del soma en particular en las células multipolares de los animales control a la edad de 220 días. En las células fusiformes y ovoides por el contrario, se observó que el tamaño celular lo alcanzaron a la edad de 30 días; en especial el de

su eje mayor. Por lo que respecta a la presencia de las espinas somáticas estudiadas en la mayoría de las células del LC, nosotros las identificamos en todos los tipos celulares y en las tres edades estudiadas, sin embargo fueron más abundantes en las neuronas multipolares a la edad de 30 y 90 días y se redujeron a la edad de 220 días de 5.7 a 2.5 en promedio, las células fusiformes y ovoides redujeron su número a la edad de 90 días.

Las células del LC, inervan distintas partes del neuroaxis por lo que pueden influir en una amplia variedad de mecanismos que dependen de múltiples receptores y de neurotransmisores, siendo de algún modo distinto al resto de las conexiones eferentes del SNC, por lo que se le involucra en la regulación de distintas funciones tanto sensitivas como motoras y que la desnutrición puede interferir de manera colectiva en los diversos tipos celulares del LC, afectando de alguna manera en la regulación de estas funciones en los animales desnutridos. Se sabe además que la función de las células del LC se aumenta durante los distintos estados de vigilancia, disminuye durante el sueño lento y aumenta durante el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), o bien en la integración de las respuestas hacia un estímulo novedoso. La repetición de diversos estímulos puede producir distintas respuestas, pero de manera decreciente, por lo que Aston-Jones (1986) propone que las funciones del LC se refieren al mantenimiento de los estados de vigilancia del animal para la correcta respuesta a los estímulos medioambientales, por lo que el animal desnutrido

estará en desventaja en proporción con la respuesta del animal normal.

CONCLUSIONES

1. El tamaño del soma se observó poco afectado por la desnutrición ya que en las células multipolares se redujo a los 220 días y en las ovoides a los 30 días, en cambio las fusiformes aumentaron el eje menor a los 90 días.
2. El número de dendritas se disminuyó con la dieta del 6% en las células multipolares en las tres edades en cambio en las células fusiformes aumentó a los 90 días y se redujo en las dendritas primarias en las otras dos edades. En las células ovoides no hubo cambios, lo que indica un efecto selectivo de la desnutrición en cada tipo celular.
3. La extensión lineal dendrítica se redujo en las tres tipos celulares y en las tres edades estudiadas en forma consistente, lo que explica el empaquetamiento celular que se presentó en los animales desnutridos.
4. El diámetro de las dendritas, también se afectó de manera selectiva ya que en las células multipolares se redujo en la dendrita primaria en las tres edades, en las fusiformes se presentaron aumentos a los 90 días y varió en las otras edades, mientras que en las ovoides presentaron aumentos principalmente en las dendritas secundarias.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA.

5. La densidad de las espinas somáticas y dendríticas se redujo en las células multipolares en las tres edades y en las fusiformes con excepción de las espinas somáticas a los 90 días, en cambio las ovoides, solo presentaron reducciones a los 90 y 220 días, lo cual podría explicar las alteraciones que se producen en los niveles de noradrenalina en estos animales.
6. En relación a los cambios producidos por la edad, la densidad de espinas dendríticas se redujo en los animales control entre los 30 y los 90 días y se aumentó entre los 90 y 220 días, en cambio en los animales desnutridos solo se presentó la disminución entre los 30 y 90 días, éste efecto fué más severo que el observado con la dieta de 8%, indicando posiblemente una reducción en la plasticidad neuronal.

REFERENCIAS

1. Ader, J. P., Room, R., Postema, F. y Korf, J. Bilaterally diverging axon collaterals and contralateral projections from rat locus coeruleus and norepinephrine metabolism. *J. Neurol. Trans.*, 49: 207-218, 1980.
2. Aghajanian, G. K., Cedarbaum, J. M. y Wang, R.Y. Evidence for norepinephrine-mediated collateral inhibition of locus coeruleus neurons. *Brain Res.*, 136: 570-577, 1977.
3. Andén, N. E., Fuxe, K., Hamberger, B. y Hökfelt, T. A. cuantitativa study on the nigro-neostriatal dopamine neuron system in the rat. *Acta Physiol. Scand.*, 67: 306, 1966.
4. Arnold, F. A. Bemerkungen über den Bau des Hirns und Rückenmarkes, Zürich, 1838. (Citado por Russell, 1955).
5. Akeyson, E. W. y Grzanna, R. The noradrenergic innervation of the rat spinal cord: A combined retrograde transport immunohistochemical analysis. *Anat. Res. Abst.*, 205: 6A, 1983.
6. Aston-Jones, G., Ennis, M., Pieribone, V. A., Nickell, W. T. y Shipley, M. T. The brain nucleus coeruleus: restricted afferent control a broad efferent network. *Science*, 234: 734-737, 1986.
7. Bedi, K. S. Lasting neuroanatomical changes following undernutrition during early life. En: *Early Nutrition and Achievement*, 1-49, Editado por Dobbing, J., Academic Press, London, 1987.
8. Caffé, A. R. y van Leeuwen, F. W. Vasopressin-immunoreactive cells dorsomedial in hypothalamic region medial amygdaloid nucleus and locus coeruleus of the rat. *Cell. Tiss. Res.*, 233: 23-33, 1983.
9. Carlsson, A., Falck, B. y Hillarp, N.A. Cellular localization of brain monoamines. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl. 169), 56: 1-28, 1962.
10. Castaldi, L. Studi sulla struttura e sullo sviluppo del mesencefalo. III. Ricerche in *Cavia cobaya*. *Arch. Ital. Anat. Embriol.*, 23: 481-609, 1926. (Citado por Russell, 1955).
11. Cedarbaum, J. M. y Aghajanian, G. K. Afferent projections to the rat locus coeruleus as determined by a retrograde tracing technique. *J. Comp. Neurol.*, 187: 1-16, 1978.

12. Cintra, L., Diaz-Cintra, S., Kemper, T. y Morgane, P. J. Nucleus locus coeruleus: A morphometric study in rats of three age groups. *Brain Res.*, 247: 17-28, 1982.
13. Conrad, L. C., Leonard, C. M. y Pfaff, D. W. Connections of the median and dorsal nuclei in the rat: An autoradiographic and degeneration study. *J. Comp. Neurol.*, 156: 179-206, 1974.
14. Cowan, W. M., Gottlieb, D. I., Hendrickson, A. E., Price, J.L. y Woosley, T.A. The autoradiographic demonstration of axonal connections in the central nervous systems. *Brain Res.*, 37: 21- 51, 1972.
15. Dahlström, A. y Fuxe, K. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous cells bodies of brain stem neurons. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl. 232), 62: 1-55, 1964.
16. Descarries, L. y Saucier, G. Disappearance of the locus coeruleus in the rat after intraventricular 6-hydroxydopamine. *Brain Res.*, 37: 310-316, 1972.
17. Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P. J. The effects of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: A morphometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Res.*, 221: 243-255, 1981.
18. Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P. J. The effects of protein deprivation on the nucleus locus coeruleus: A morphometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Res.*, 304: 243-253, 1984.
19. Dobbing, J. Vulnerable periods in developing brain. In: *Applied Neurochemistry*, 287-316, Edited by Davison, A. N. y Dobbing, J., Blackwell, Oxford, 1968.
20. Dobbing, J. The late growth of the brain and its vulnerability. *Pediatrics*, 53: 2-6, 1974.
21. Falck, B. Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method. *Acta Physiol. Scand.*, 62: 5232, 1962.
22. Felten, D. L., Laties, A. M. y Carpenter, M. B. Monoamine containing cell bodies in the squirrel monkey brain. *Amer. J. Anat.*, 139: 153-156, 1974.
23. Finley, K. H. y Cobb, S. The capillary beds of locus coeruleus. *J. Comp. Neurol.*, 73: 49-58, 1940.

24. Foote, S. L., Aston-Jones, G. y Bloom, F. E., Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a functions of sensory stimulation and arousal. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77: 3033-3037, 1980.
25. Forel, A. Untersuchungen über die haubenregion. *Arch. F. Psychiatr.*, 7: 393-495, 1877. (Citado por Russell, 1955).
26. Fuxe, K. Evidence for the existence of monoamine nerons in the central system. III. The monoamine nerve terminal. *Zellforsch.*, 61: 710-724, 1964.
27. Fuxe, K. Evidence for the existence of monoamine-contain neurons in the central nervous system. IV. Distribution of monoamine nerve terminals in the central nervous system. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl. 247), 64: 39-85, 1965.
28. Groves, P. M. y Wilson, C. J. Fine structure of rat locus coeruleus. *J. Comp. Neurol.*, 193: 841-852, 1980a.
29. Groves, P. M. y Wilson, C. J. Monoaminergic presynaptic axons and dendrites in rat locus coeruleus seen in reconstructions of serial sections. *J. Comp. Neurol.*, 193: 853-862, 1980b.
30. Grzanna, R., Chee, W. K. y Akeyson, E. W. Noradrenergic projections to brain stem nuclei: Evidence for differential projections from noradrenergic subgroups. *J. Comp. Neurol.*, 267: 76-91, 1987.
31. Grzanna, R. y Molliver, M. E. The locus coeruleus in the rat: an immunohistochemical delineation. *Neuroscience*, 5: 21-40, 1980.
32. Gudden, B. A. von Beitrag zur Kentniss der Wurzlen des Trigemini-nerven. *Allg. Zeits. f. Psychiatr.*, 40: 16-33, 1891. (Citado por Russell, 1955).
33. Guyenet, P. G. y Byrum, C. E. Comparative effects of sciatic nerve stimulation, blood pressure and morphine on the activity of A5 and A6 pontine noradrenergic neurons. *Brain Res.*, 327: 191-201, 1985.
34. Hammer, R. P. The influences of pre and postnatal undernutrition on the developing brainstem reticular core: A quantitative Golgi study. *Brain Res.*, 1: 191-201, 1981.
35. Hillarp, N. A., Fuxe, K. y Dahlström, K. Central monoamine neurons. In: *Mechanisms of release of biogenic amines*, p. 32, Edited by von Fuller, S.,

- Russell, S. and Uvni, B., Pergamon Press, Oxford, 1966.
36. His, W. Die Entwicklung des menschlichen rautenhirns, von ende des ersten bis zum beginn des dritten monats. I. Verlangertes Mark. Abh. Math. Phys. Kl. kgl. sachs Ges. Wiss., 17: 1-75, 1891. (Citado por Russell, 1955).
 37. Hökfelt, T., Fuxe, K. y Goldstein, M. Applications of immunohistochemistry to studies on monoamine cell systems with special reference to nervous tissue. Ann. NY Acad. Sci., 254: 407-432, 1975.
 38. Hubbard, J.E. di Carlo Fluorescence histochemistry of monoamine-containing cell bodies in the cat. J. Comp. Neurol., 157: 43-52, 1973.
 39. Jones, B. E. y Moore, R. Y. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. II Autoradiographic study. Brain Res., 127: 23-53, 1977.
 40. Jordan, T. C., Howells, K. F., McNaughton, N. y Heatlie, P.L. Effects of early undernutrition on hippocampal development and function. Res. Exp. Med. (Berl.), 180: 201-207, 1982.
 41. Kosaka, K. Zur frage der physiologischen natur der cerebralen trigeminus wurzel. Folia Neurobiol., 6: 1-16, 1912. (Citado por Russell, 1955).
 42. La Vail, J.H. y La Vail, M.M. Retrograde axonal transport in the central nervous system. Science, 176: 1416-1417, 1972.
 43. Léger, L. y Hernández-Nicaise, H.L. The cat locus coeruleus. Light and electron microscopy study of the neuronal somata. Anat. Embryol., 159: 181-198, 1980.
 44. Léger, L., Winklund, L., Descarries, L. y Persson, M. Descriptions of indolaminergic cell component in the cat locus coeruleus: A fluorescence histochemical and radioautographic study. Brain Res., 168: 43-66, 1979.
 45. Leuba, G. y Rabinowicz, Th. Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. I. Cellular densities, cortical volume and total numbers of cells. J. Comp. Neurol., 37: 283-298, 1979.
 46. Levitt, P. y Moore, R. Y. Noradrenaline neuron innervation of the neocortex in the rat. Brain Res., 139: 219-232, 1978.
 47. Lindvall, O. y Björklund, A. The glyoxylic acid fluorescence histochemical method: A detailed account

- of the methodology for the visualization of central catecholamine neurons. *Histochem.*, 39: 97-127, 1974.
48. Lorente de Nó, R. Contribución al conocimiento del nervio trigémino. Libro en Honor de Cajal, 2: 13-27, 1922. (Citado por Russell, 1955).
 49. Loughlin, S. E., Foote, S. L., y Brzanna, R. Efferent projections of nucleus coeruleus: Morphologic subpopulations have different efferent targets. *Neuroscience*, 18: 307-319, 1986.
 50. Loughlin, S. E. y Fallon, J. H. Locus Coeruleus. In: *The rat nervous system*, 79-93, Editado por Paxinos, G., Academic Press, Sydney, Australia, 1985.
 51. Loy, R., Koziell, D., Lindsey, J. y Moore, R. Y. Noradrenergic innervation of the adult rat hippocampal formation. *J. Comp. Neurol.*, 189: 699-710, 1980.
 52. Maeda, T., Pin, C., Salvat, D., Ligier, M. y Jouvett, M. Les neurones contenant des catecholamines du tegmentum pontique et leurs voies de projection chez le chat. *Brain Res.*, 57: 119-152, 1973.
 53. May, O. y Horsley, V. The mesencephalic root of the fifth nerve. *Brain*, 33: 175-203, 1910. (Citado por Russell, 1955).
 54. McConnell, P. y Berry, M. Effects of refeeding after neonatal undernutrition on Purkinje cell dendritic growth in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 177: 159-172, 1978.
 55. McConnell, P. y Berry, M. The effects of refeeding after varying periods of neonatal undernutrition on the morphology of Purkinje cells in the cerebellum of the rat. *J. Comp. Neurol.*, 200: 463-479, 1981.
 56. Mendel, E. Zur lehre von der hemiatrophiafacialis. *Neurol. Centralbl.*, 7: 401-412, 1878. (Citado por Russell, 1955).
 57. Meynert, T. The brain of mammals, Stricker's Manual of histology Wm. Wood Co., New York, 1872. (Citado por Russell, 1955).
 58. Miller, M., Leahy, J. P., Stern, W. C., Morgane, P. J. y Resnick, D. Tryptophan availability: the importance of prepartum and postpartum dietary protein on brain indolamine metabolism in rats. *Exp. Neurol.*, 67: 298-314, 1980.
 59. Miller, M., Hasson, R. y Resnick, D. Availability of tyrosine and phenylalanine for brain norepinephrine

- synthesis in protein malnourished rats. Soc. Neurosci. (10th Annual Meeting), p. 138, Cincinnati, Ohio, 1980.
60. Moore, R. Y. The reticular formation: monoamine neuron systems. En: The reticular formation, 67-81, Editado por Hobson, J.A. y Brazier, M.A.B., Raven Press, New York, 1980.
61. Moore, R. Y. y Bloom, F. E. Central catecholamine neuron systems: Anatomy and Physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. Ann. Rev. Neurosci., 2: 113-168, 1979.
62. Morgane, F. J., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J. Kissane, J. Hawrylewicz E. y Resnick, O. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. Neurosci. Biobehav. Rev., 2: 137-230, 1978.
63. Morrison, J. H., Grzanna, R., Molliver, M. E. y Coyle, J.T. The distribution and orientation of noradrenergic fibers in neocortex of the rat: An immunofluorescence study. J. Comp. Neurol., 181: 17-40, 1978.
64. Nagai, T., Satoh, K., Imamoto, K. y Maeda, T. Divergent projections of catecholamine neurons of the locus coeruleus as revealed by fluorescent retrograde double-labeling technique. Neurosci. Lett., 23: 117-123, 1981.
65. Nygren, L. G. y Olson, L. A. New major projection from locus coeruleus: the main source of noradrenergic nerve terminals in the ventral and dorsal columns of the cord. Brain Res., 132: 85-94, 1977.
66. Olson, L. y Fuxe, K. On the projections from the locus coeruleus noradrenaline neurons: The cerebellar innervation. Brain Res., 28: 165-171, 1971.
67. Olszewski, J. y Baxter, D. Cytoarchitecture of the human brain stem. Lippincott, J.B. Co., Philadelphia, 1954.
68. Paxinos, G. y Watson, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, Sydney, Australia, 1982.
69. Pfister, V. C. y Danner, H. Fluoreszenzhistochemische und neurohistologische untersuchungen am Locus coeruleus der ratte (Fluorescence histochemical and neurohistological investigations on the Locus coeruleus of the rat. Acta Histochem., 66: 101-113, 1980.

70. Pickel, J. M., Segal, M. y Blom, F. E. A radioautographic study of the efferent pathways of the nucleus locus coeruleus. *J. Comp. Neurol.*, 155: 15-42, 1974.
71. Ramón y Cajal, S. *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertèbres*. Maloine, Paris, 1909. (Citado por Russell, 1955).
72. Ramón-Moliner, E. The locus coeruleus of cat. III. Light and electron microscopic studies. *Cell. Tissue Res.*, 149: 205-221, 1974.
73. Ramón-Moliner, E. y Dansereau, J. C. The peribrachial region of the cat. I. Topographic study with special reference to the locus coeruleus. *Cell. Tissue Res.*, 149: 173-190, 1974.
74. Reil, J. C. Reil's arch. f. d. *Physiol.* 9 : 511, 1809. (Citado por Zieher, 1920).
75. Resnick, D., Morgane, P. J., Hasson, R. y Miller, M. Overt and Hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neurosc. Biobehav. Rev.*, 6: 55-75, 1982.
76. Riley, H. A. *An atlas of the basal ganglia, brain stem, and spinal cord*. Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1943.
77. Ross, R. A. y Reiss, D. J. Effects of lesions of locus coeruleus on regional distribution of dopamine- β -hydroxylase activity in rat brain. *Brain Res.*, 73: 161-166, 1974.
78. Russell, G. V. The nucleus locus coeruleus (dorsolateralis tegmenti). *Texas Rev. Biol. Med.*, 13: 939-988, 1955.
79. Salas, M., Diaz, S. y Nieto, A. Effects of neonatal food deprivation on cortical dendritic development of the rat. *Brain Res.*, 73: 139-144, 1974.
80. Scheibel, A. y Scheibel, M. Discussion. In: BIS Conference report #32, 12-14, Brain Information Service, BRI Publications, Los Angeles, 1973.
81. Shimizu, N. y Imamoto, K. Fine structure of the locus coeruleus in the rat. *Arch. Histol. Jap.*, 31(3/4): 229-246, 1970.
82. Shimizu, N., Katoh, Y., Hida, T. y Satoh, K. The fine structural organization of locus coeruleus in the rat with reference to noradrenaline contents. *Exp. Brain Res.*, 37: 139-148, 1979.

83. Shimizu, N., Ohnishi, S. y Satoh, K. Cellular organization of locus coeruleus in the rat as studied by Golgi method. Arch. Histol. Jap., 41(2): 103-112, 1978.
84. Sladek, J. R. y Walker, P. Serotonin-containing neuronal perikarya in the primate locus coeruleus and subcoeruleus. Brain Res., 134: 357-366, 1977.
85. Snider, R.S. A cerebellar-coeruleus pathways. Brain Res., 88: 59-63, 1975.
86. Swanson, L.W. The locus coeruleus: A cytoarchitectonic, Golgi and immunohistochemical study in the albino rat. Brain Res., 110: 39-56, 1976.
87. Swanson, L.W. Immunohistochemical evidence for a neurophysin-containing autonomic pathway arising in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. Brain Res., 128: 346-353, 1977.
88. Swanson, L.W. y Cowan, W.M. Autoradiographic studies of the development and connections of the septal area in the rat. En: The Septal Nuclei, 37-64, Editado por De France, J., Plenum, New York, 1977.
89. Swanson, L. W. y Hartman, B. K. The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine- β -hydroxylase as a marker. J. Comp. Neurol., 163: 467-506, 1975.
90. Swanson, L. W., Sanchenko, P. E., Rivier, J. y Vale, W.W. Organization of ovine corticotropine releasing factor immunoreactive cells and fibers in the rat brain: An immunohistochemical study. Neuroendocrinol., 36: 467-505, 1983.
91. Tamthai, B. The nuclear pattern of the non-tectal portions of the mid-brain and isthmus in the mink. J. Comp. Neurol., 78: 407-440, 1943.
92. Tatemichi, R. y Ramón-Moliner, E. Structure of the somatic appendages of neurons of locus coeruleus in cat. Brain Res., 96: 317-322, 1975.
93. Terterjanz, M. Die obere trigeminuswurzel. Arch. F. Mikr. Anat. U. Entw, 53: 632-659, 1899. (Citado por Russell, 1955).
94. Thelander, H. E. The course and distribution of the Radix Mesencephalica trigemini in the cat. J. Comp. Neurol., 37: 207-220, 1924.

95. Uhl, G. R., Goodman, R. R. y Snyder, S. Neurotensin-containing cell bodies, fibers and nerve terminals in the brainstem of the rat: Immunohistochemical mapping. *Brain Res.*, 167: 77-91, 1979.
96. Ungerstedt, U. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 367: 1-48, 1971.
97. Warren, M.J. y Bedi, K.S. Synapse-to-neuron in the visual cortex of adult rats undernourished from adult birth until 100 days of age. *J. Comp. Neurol.*, 210: 59-64, 1982.
98. Wenzel, J. y Wenzel, K. De penitiori structura cerebri, 1811 (Citado por Russell, 1955).
99. West, C.D. y Kemper, T. The effect of low protein diet on the anatomical development of the rat brain. *Brain Res.*, 107: 221-237, 1976.
100. Westlund, K.N., Bowker, R. M., Ziegler, M. G. y Coulter, J.D. Noradrenergic projections to the spinal cord of the rat. *Brain Res.*, 263: 15-31, 1983.
101. Westlund, K. N., Bowker, R. M., Ziegler, M. G. y Coulter, J.D. Origins of spinal noradrenergic pathways demonstrated by retrograde transport of antibodies to dopamine- β -hydroxylase. *Neurosci. Lett.*, 25: 243-249, 1981.
102. Westlund, K. N. y Coulter, J. D. Descending projections of the locus coeruleus and subcoeruleus/medial parabrachial nuclei in monkey: Axonal transport studies and dopamine- β -hydroxylase immunocytochemistry. *Brain Res. Rev.*, 2: 235-264, 1980.
103. Wiklund, L., Léger, L. y Persson, M., Monoamine cell distribution in the cat brain stem. A fluorescence histochemical study with quantification of indolaminergic and locus coeruleus cell groups. *J. Comp. Neurol.*, 203: 613-647, 1981.
104. Willems, E. Localisation motrice et kinesthésique. Les noyaux masticateur et mésencéphalique du trijumeau chez le lapin. *Le Nevraxe*, 12: 1-22, 1911. (Citado por Russell, 1955).
105. Woodburne, R.T. The nuclear pattern of the non-tectal portions of the midbrain and isthmus in the opossum. *J. Comp. Neurol.*, 78: 169-190, 1943.